

В. И. СОЛОВЬЕВ

СОЗРЕВАНИЕ МЯСА

тировал и опубликовал на сайте : PRESSI (I

СОЗРЕВАНИЕ МЯСА

(ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА ПРОЦЕССА)

ИЗДАТЕЛЬСТВО
«ПИЩЕВАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ»
МОСКВА · 1966

ВВЕДЕНИЕ

В книге описаны строение и свойства белков мяса, указаны факторы, влияющие на нежность мяса.

Рассмотрены биохимические основы послеубойного созревания, приведены практические способы интенсификации процессов созревания мяса (применение антибиотиков, ионизирующих излучений, ультразвука, протеолитических ферментов и т. д.). Описаны методы исследования мяса и активности их ферментов, а также ферментов, искусственно вводимых в мясо для его размягчения. Книга предназначена для инженерно-технических и научных работников мясной промышленности.

Рецензенты: д-р техн. наук Н. А. ГОЛОВКИН,
канд. хим. наук В. Ф. ПАЛЬМИН.

Мясная промышленность — одна из основных отраслей пищевой промышленности, которая производит важнейшие по своим биологическим свойствам продукты питания. Многообразные биохимические процессы лежат в основе технологии производства почти всех пищевых продуктов. В связи с этим современная наука придает первостепенное значение роли ферментов в направленном регулировании и интенсификации технологических процессов пищевой промышленности, а также в улучшении качества продуктов питания. Только на основе глубокого понимания ферментативных явлений, как указывает Бах, мы можем действительно рационально управлять технологическими процессами и получать продукты высокого качества [2]. Это положение имеет особенно большое значение для мясной промышленности, так как важнейшие показатели мяса, получаемого от различных животных одного и того же вида, очень отличаются.

Основными задачами технической биохимии пищевых продуктов являются вопросы разработки рациональной технологии переработки сырья и повышения пищевой и вкусовой ценности промышленной продукции, включая усиление аромата, вкуса и других показателей [3]. Один из наиболее важных технологических процессов мясного производства — созревание мяса. Несмотря на большое число работ, посвященных изучению этого процесса, в литературе нет еще четкости изложения на современном научном уровне теории и практики его проведения. Это затрудняет возможность построения на научной основе технологических процессов мясной промышленности.

Сморodinцев [4] рассматривает созревание мяса как ферментативный, автолитический процесс, который обусловлен действием ферментов после убоя животного в ином направлении, чем при жизни его. Этот процесс представляет собой постепенный распад ряда компонентов мяса.

Биохимические процессы, происходящие в мясе при его созревании, следует разделить на две основные группы.

К первой группе относятся превращения в белковой системе, которые приводят к изменению нежности мяса (консистенции мышечной ткани).

Вторую группу процессов составляют изменения в системе экстрактивных веществ, вызывающие образование и накопление продуктов, придающих мясу определенные вкус и аромат.

Однако полностью изолировать одну группу процессов от другой нельзя. Некоторые органические экстрактивные и минеральные вещества оказывают определенное влияние на механические свойства белков мяса. В то же время изменения в системе экстрактивных веществ связаны не только с распадом углеводов мяса, но и с появлением и накоплением продуктов распада белков (свободных аминокислот). Они обусловлены действием ферментов, имеющих белковую природу.

Созревание мяса крупного рогатого скота представляет собой комплекс биохимических и физико-химических процессов, протекающих в мышечной и соединительной тканях после прекращения жизни животных. В результате этих процессов наблюдаются изменения в микроскопической структуре указанных тканей, причем мышечная ткань размягчается и в мясе накапливаются продукты, улучшающие его вкус и аромат. Все эти изменения повышают усвояемость мяса.

Ферментативная природа процесса созревания обуславливает возможность его интенсификации и применения искусственно вводимых ферментных препаратов.

В Советском Союзе ферментные препараты находят все более широкое практическое применение в спиртовой, пивоваренной, хлебопекарной, кожевенной, плодово-ягодной, молочной и других отраслях промышленности.

Эффективность применения ферментов при производстве мяса и мясоспроудов зависит от глубины изучения медленно протекающих в мясе в естественных условиях автолитических процессов, которые вызывают желаемые изменения основных компонентов мяса: белков, липидов, углеводов и экстрактивных веществ.

В данной монографии сделана попытка охарактеризовать биохимические основы процессов послеубойного ооченения и созревания мяса, а также происходящих при этом изменений в структуре тканей на основании литературных данных и результатов собственных исследований. В монографии также дана оценка рекомендуемых различными авторами ускоренных способов созревания. При этом особое внимание уделено одному из них, наиболее распространенному, так называемому искусственному созреванию мяса с протеолитическими ферментами.

Разобраться в проблемах, освещенных в главах 4—8 монографии, невозможно без четкого представления о белковом составе мяса, свойствах белков мышечной ткани, факторах, определяющих нежность мяса, и о химической природе веществ, обуславливающих его вкус и аромат.

Эти вопросы еще не нашли всестороннего освещения в отечественной и зарубежной литературе и имеются противоречивые и даже взаимоисключающие точки зрения. Поэтому возникла необходимость их осветить в главах 1, 2 и 3.

В главе 9 приводится характеристика современных биохимических методов исследования, применяемых при изучении процесса созревания мяса.

Описанные нами методы в большинстве случаев еще не освещены в специальных пособиях по исследованию мяса. Их можно применить не только для изучения созревания мяса, но и ряда других технологических процессов мясной промышленности (замораживание, дефростация, посол, сушка и т. д.), а также для объективной оценки качества мяса и мясных изделий.

Глава 4 и раздел «Изменения микроскопической картины строения тканей мяса» в главе 6 написаны канд. ветеринарных наук В. А. Адуцкевичем.

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ МЯСА И ОТДЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Материал по данному вопросу изложен в ряде монографий и специальных руководств, поэтому в этой работе приводятся только некоторые данные, необходимые для правильной трактовки вопросов в последующих главах.

Гексли [6] дал схематические изображения строения мышечных волокон, фибрилл и филаментов.

Предложенная Гексли [6] модель мышечной фибриллы дает достаточно простое объяснение большинству изменений поперечной исчерченности мышц и устанавливает связь между гистологическим строением и химическим составом мышцы. Согласно этой модели основу мышечной фибриллы составляют актиновые филаменты, которые занимают пространство от Z-линии до начала H-зоны, где они прикрепляются к эластическому компоненту.

Миозиновые филаменты занимают пространство от одного конца A-полосы, через всю H-зону, до другого ее конца. Согласно представлениям Гексли, длина последних филаментов не изменяется при сокращении. Таким образом, миозиновые и актиновые филаменты в A-полосе находятся рядом один с другим. Актиновые филаменты присоединяются к миозиновым филаментам в центре A-полосы при помощи поперечных связей. Предполагается, что при сокращении мышцы происходит «скольжение» нитей актина в промежутках между нитями миозина. Этот процесс начинается в результате взаимодействия групп актина, активированных аденозинтрифосфорной кислотой (АТФ), с функциональными группами миозина. Схема дает наглядное представление о взаимосвязи между структурными белками в живом мускуле. Однако она не может объяснить происходящие при послеубойном окоченении процессы, поскольку образующиеся при этом и наблюдаемые под микроскопом узлы и волны окоченения несоизмеримы с размерами элементов, которые составляют миофибриллу.

Предпринимались многочисленные попытки фракционировать белки мышечной ткани и установить, в каком соотношении

входят в ее состав различные белки. В зависимости от условий экстрагирования получаются результаты, в значительной мере отличающиеся друг от друга. Эти работы имели общий недостаток — около 15—20% общего количества мышечных белков оставалось неэкстрагированными. Сравнительно недавно Хеландером [5] была предложена новая схема фракционирования мышечных белков. По этой схеме анализируется около 95% содержания азота в ткани. Распределение белков мышечной ткани кролика по фракциям (по Хеландеру) характеризует табл. 1.

Таблица 1

Белковые фракции	Содержание в мышечной ткани			
	азот, мг на 1 г ткани	азот фракции, в % к общему азоту ткани	белок фракции, в % к общему белку 100 г ткани	белок фракции, % к общему количеству белков ткани
Миофибриллярные белки	17,1±0,21	52,3±0,64	11,03±0,135	58,4±0,71
Саркоплазматические белки	10,4±0,08	31,8±0,24	6,71±0,052	35,5±0,28
Белки стромы	1,8±0,24	5,5±0,73	1,16±0,155	6,2±0,82
Небелковый азот	3,4±0,05	10,4±0,15	—	—

Эти данные относятся к мышечной ткани, изъятной из организма немедленно после прекращения жизни животного. Как будет показано ниже, послеубойные изменения вносят существенные коррективы в соотношении белковых фракций мышечной ткани.

Фракция саркоплазматических водорастворимых белков (миоген, миоглобин, миоальбумин, глобулин Х, нуклеопротейды) характеризуется глобулярным строением своих молекул. Белки этой фракции принимают лишь косвенное участие в акте мышечного сокращения и послеубойных изменениях консистенции мяса. Последнее обусловлено наличием у них ряда ферментативных свойств. Фракция стромы включает главным образом белки внутримышечной соединительной ткани (коллаген, эластин, мукопротеины основного вещества), нерастворимые в солевых растворах. Они имеют весьма существенное значение в придании мясу жесткости. Поэтому изучение их количественного содержания и качественного состояния в мясе представляет значительный интерес для биохимии пищи и питания.

Миофибриллярные белки (миозин, актин, актомиозин и др.) ввиду исключительной роли, которую они играют в акте мышечного сокращения, часто называют также сократительными, или контрактальными белками. Большинство из них растворяется только в солевых растворах.

В последующих главах дается изложение их значения в развитии процессов послеубойного оконченения и его расслабления, вызывающего увеличение нежности при созревании мяса.

В литературе имеются сообщения о выделении из мышечной ткани новых миофибриллярных белков. Однако их индивидуальность не во всех случаях окончательно доказана. Все же при изучении свойств белковых фракций, экстрагированных из мышечной ткани солевыми растворами различной ионной силы, следует принимать во внимание возможность влияния этих белков на получаемые результаты.

В табл. 2, заимствованной из работы Марко-Ребер [9], приведены некоторые свойства указанных белков. Представляет интерес сообщение Амберсона и сотрудников [1] о выделении ими D-протенина. Он экстрагируется при значительно большей ионной силе солевых растворов, чем миозин и актомиозин, обладает способностью соединяться с миозином и образует более вязкие растворы, чем последний. С другой стороны, следует отметить Y-протенин Дюбиссона [2] и экстрапротенин Сент-Дьердья и Виллафранка [14, 15]. Эти белки, экстрагируясь из мышечной ткани приблизительно при одинаковых условиях с миозином, отличаются от него своей способностью растворяться при очень низкой ионной силе солевых растворов.

Метаммиозин был выделен Марко-Ребер [9] из мышц эмбрионов кроликов и баранов. По данным авторов, его количество уменьшается в процессе эмбрионального развития и у взрослых животных он содержится только в виде следов. Поэтому в мясе молодых животных может оказаться белок, имеющий близкие к миозину свойства экстрагируемости и растворимости в солевых растворах, но не обладающего способностями соединяться с актином и расщеплять АТФ.

Данные о свойствах миофибриллярных белков даны в табл. 2. Следует более подробно остановиться на свойствах меромиозинов.

Многими исследователями было показано, что трипсин, химотрипсин и субтилолептитидаза быстро изменяют миозин, образуя водорастворимый материал без какой-либо потери АТФазной активности.

Гергели [3] получил при этом две фракции: одну растворимую и другую нерастворимую при низкой ионной силе солевых растворов. При этом большинство АТФазной активности оставалось в растворимой фракции.

Сент-Дьердь [13] изучил свойства этих компонентов и назвал продукт, имеющий молекулярный вес [МВ] 230 000, Н-меромиозином, а меньший МВ (100000) Л-меромиозином.

Изучая их физические свойства, Сент-Дьердь установил, что растворимости Л-меромиозина и миозина практически оди-

Таблица 2

Миофибрилярные белки	Экстрагируемость	Растворимость	Изоточка	Электрофоретическая подвижность, 10^{-5} см ² /сек	Ферментативная активность	Особые свойства
Миозин	При ионной силе $\mu = 0,6$ в присутствии АТФ	Нерастворим при $\mu < 0,1$	5,4	-2,5 при pH 7,1 -3,0 при pH 7,5	АТФаза	Соединяется с актином, давая актомиозин $[\eta]i = 240$
Актомиозин	$\mu = 0,6$ в отсутствие АТФ	Нерастворим при $\mu < 0,3$	—	-2,95 при pH 7,1 -3,4 при pH 7,5	АТФаза	Дает нити, которые скручиваются под действием АТФ, и растворимы, вязкость которых уменьшается под действием АТФ
Контрактин	$\mu = 0,6$; в мускуле, находящемся в состоянии контрактуры	Нерастворим при $\mu < 0,2$	5,0	-2,0 при pH 7,1	Деаминаза аминной кислоты (АК)	Выделяется в больших количествах из мускула, находящегося в состоянии контрактуры $[\eta]i = 100$
У-протеин Дюблессона [2]	$\mu = 0,5$; в мускуле, находящемся в состоянии покоя	Растворим при $\mu = 0,005$	—	-2,7 (между контрактником и миоэпном) при pH 7,4—7,1	—	—
Экстрапротеин Сент-Джорджа и Виллафранка [14, 15]	$\mu = 0,6$; вместе с миоэном	Растворим при ионной силе	—	—	—	Не соединяется с актином
D-протеин Амберсона, Уайта и др. [1]	$\mu > 1,0$	—	—	-4,6 при pH 7,1	—	Соединяется с миоэном. Более вязкий чем миоэин

Продолжение табл. 2

Миофибрилярные белки	Экстрагируемость	Растворимость	Изоточка	Электрофоретическая подвижность, 10^{-5} см ² /сек	Ферментативная активность	Особые свойства
Актин	Экстрагируется водой после воздействия органических растворителей	Растворяется в воде и солевых растворах	Актив Ф 4,9 Актив Г 5,0—5,1 ($\mu = 0,33$)	Актив Ф -6,3 при pH 7,4 Актив Г -4,6 при pH 7,4 -4,3 при pH 7,1	—	Существует в двух формах: фибриллярной и глобулярной. Соединяется с миоэном
Тропомиозин	$\mu > 0,6$. После воздействия органических растворителей	Растворим при ионной силе	5,0	—	—	Существует нуклеотропомиозин
Деаминаза аминной кислоты Я-Пина-ли [16]	$\mu = 0,6$. Вместе с миоэном	Нерастворим в растворах с ионной силой	5,6 ($\mu = 0,2$) 5,1 ($\mu = 0,33$)	-2,2 при pH 7,6 -3,35 при pH 8,25	Деаминаза АК	Устойчив к нагреванию (в течение нескольких минут при 50°С)
Псевдоглобулин Перри [11, 12]	Выделяется из миофибрилл при помощи 0,075M бората	Растворим в растворах с ионной силой	—	-3,7 при pH 6,5	—	Вероятно представляет собой смесь неактивной формы и одного тропомиозина и одного еще неизвестного белка
L-Меромиозин	Получается при триптическом переваривании миоэина	Нерастворим при $\mu < 0,1$	5,7—5,8	—	Деаминаза АК, холлестерера	Не соединяется с актином $[\eta]i = 100$
H-Меромиозин	Получается при триптическом переваривании миоэина	Растворим в растворах ионной силы	5,2	-3,8 при pH 7,1	АТФаза	Соединяется с актином $[\eta]i = 32$
Метамиозин Марко-Рейер [9]	$\mu = 0,6$. В присутствии или в отсутствие АТФ	Растворим при $\mu > 0,3$	5,1—5,2	-1,85 при pH 7,1 -2,1 при pH 8,25	Деаминаза АК	—

наковы в KCl и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Н-меромиозин не осаждается при низких концентрациях KCl и растворяется в воде. Кроме того, он осаждается при более высоких концентрациях $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (45—55% насыщения), чем миоин и Л-меромиозин (30—40% насыщения).

Растворимость расщепленного трипсином миоина представляет собой сумму растворимостей указанных компонентов. По этой причине после кратковременного (12-минутного) воздействия трипсина на миоин при pH 8,8 в воде растворяется свыше 60% белка.

Из данных Котинца и других [7], об аминокислотном составе белков фракции миоина можно сделать такой вывод: при делении молекулы миоина значительные количества содержащихся в нем глютаминовой кислоты и аргинина переходят в Л-меромиозин, а фенилаланина, глицина и пролина — в Н-меромиозин.

В результате этого Л-меромиозин по сравнению с миоином содержит больше глютаминовой кислоты и аргинина и меньше фенилаланина, глицина и пролина.

Для Н-меромиозина наблюдается противоположная зависимость. Миддлбрук [10] при помощи метода Сангера проверил содержание N-концевых групп в Л-меромиозине, образованных действием трипсина, химотрипсина и субтилопептидазы. При этом было установлено наличие в нем следов более чем 10 N-концевых остатков, составляющих в сумме не более 2 экв на 1 моль белка.

Автором была также показана возможность деполимеризовать Л-меромиозин в 5М растворе мочевины и таким путем приблизительно в 10 раз увеличить в нем количество N-концевых групп.

Ниже приведено содержание N-концевых групп в деполимеризованном Л-меромиозине (средний МВ цепи 5,000) (табл. 3).

Таблица 3

Аминокислоты	Содержание N-концевых остатков аминокислот на 100000 экв белка, экв
Аспарагиновая	2
Глютаминовая	2
Треонин	1
Серин	2
Аланин	2
Глицин	1 или 2
Валин	2
Изолейцин	2
Лизин	4
Аргинин	2

Автор отмечает, что результаты всегда получаются одни и те же, независимо от применявшегося фермента.

При обработке Л-меромиозина карбоксипептидазой А освобождаются следующие C-концевые аминокислоты в количестве от 1 до 2 экв на 1 молекулу: аспарагиновая кислота, треонин, серин, аланин, глицин, валин, изолейцин, фенилаланин, гистидин и тирозин.

Лаки [8] пришел к выводу, что меромиозины являются продуктами протеолитического расщепления миоина и не должны рассматриваться в качестве предсуществующих в миоине субстанций.

Представляют также интерес сведения о том, с какими компонентами мышечной ткани связаны ионы щелочноземельных металлов и адениннуклеотиды.

Из данных Хассельбаха [4] видно, что 60% мышечного кальция, 10% магния и 5% аденина связаны структурными белками мышц*. Кроме того, аденин в форме АДФ связывается почти исключительно актином; 60% содержащегося в фибриллах кальция также связано актином, 35% — миоином и 5% — белками стромы. Содержание магния в актине и Л-миозине приблизительно одинаковое. Несвязанный структурными белками кальций в количестве 65% удерживается граной, а 35% (или менее 15% общего количества) удаляется из мышечной ткани вместе с водорастворимой фракцией. Таким образом, эти данные подчеркивают значение актина в связывании ионов щелочноземельных металлов и адениннуклеотида.

Таблица 4

Компоненты	Содержание в 100 экв мышечной ткани, экв	Связано компонентами мышечной ткани, экв					
		водорастворимая фракция	миоин	актин	белками стромы	нерастворимая структурная белками граной	граной
Кальций	203	30	45	71	7	123	50
Магний	950	846	37	45	0	82	22
Аденин	970	914	—	48	0	48	8

* Сумма компонентов, связанных миоином, актином и белками стромы.

* Распределение Ca, Mg и аденина в мышцах (по Хассельбаху) дано в табл. 4.

ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ НЕЖНОСТЬ МЯСА

Практические наблюдения показывают, что большая часть отрубов охлажденной или мороженой говяжьей туши остается жесткой даже после длительной кулинарной обработки. Ранее приводились данные о влиянии ряда причин на нежность мяса [7]. Следует отметить, что нежность является более важным показателем для говядины, чем для свинины, баранины и телятины. Жесткость мяса определяют факторы прижизненные и послеубойные. К прижизненным относятся: вид, возраст, пол и предубойное состояние животного; тип, количество и качественное состояние соединительной ткани; размер мышечных пучков и диаметр мышечных волокон. Последние зависят от степени активности животных и характера работы, выполняемой различными мускулами. Важными послеубойными факторами являются процессы созревания мяса и методы его технологической и кулинарной обработки. Структура мышечной ткани рассматривается как показатель, тесно связанный с нежностью мяса. При более тонкой структуре мяса оно должно быть нежнее [40]. Установлено также [12, 24, 38] увеличение размера волокон и мышечных пучков с возрастом животного и степенью его тренировки.

Однако умеренная мышечная работа, сопровождающаяся развитием мускулатуры, не увеличивает жесткости мяса, а наоборот, улучшает его нежность [13]. Химические анализы показывают относительное уменьшение при этом содержания коллагена [32]. Также установлено, что сопротивление резанию (жесткость мяса) увеличивается по кривой по мере увеличения диаметра мышечных волокон [24].

Предполагалось, что категория упитанности является хорошим показателем нежности говяжьего мяса. Однако С. Ковер и другие [10] не смогли установить зависимости между этими характеристиками. Следует также остановиться на вопросе о влиянии мраморности мяса на его нежность.

Ранее предполагалось, что в так называемом мраморном мясе жировые вкрапления разделяют пучки соединительно-тканых волокон, более равномерно распределяют их между мышечными волокнами, способствуя нежности мяса.

Однако рядом работ [15, 25, 35] установлено, что такой взаимозависимости не существует или она выражена очень слабо. Так, собранные Пальмером [8] данные дегустационных оценок мяса 450 различных по возрасту и упитанности животных свидетельствуют о том, что только меньше чем в 10% случаев на нежность оказала влияние мраморность мяса.

Хусанин, Детерейдж и Кункль [25], исследуя нежность мяса туш животных Гольштейнской и Герефордской пород, не нашли никакой разницы между ними.

Однако более поздние исследования [9, 14] показали: в пределах каждой породы животных имеется тип скота, который дает нежное мясо, в то время как от другого типа получается мясо только жесткое. Эти свойства передаются по наследству через быков-производителей и наследуемость фактора нежности у крупного рогатого скота составляет около 60%. Следовательно, нежность мяса может быть значительно улучшена путем селекции производителей потомства.

Следует также подчеркнуть значительные различия в нежности мяса в пределах одной туши и даже одного мускула. Минимальная жесткость после тепловой обработки наблюдается у большого поясничного мускула (сопротивление резанию = 7,1 фунта¹ [71]), а максимальная — у ромбовидного мускула (16,3 фунта), находящегося в плечевой части туши [34, 40].

Жесткость двуглавого мускула бедра, широчайшего спинного и полуперепончатого мускулов подвержена значительным колебаниям и зависит от места отбора проб. В то же время на всем протяжении глубокого грудного, длиннейшего мускула спины, большого поясничного и полусухожильного мускулов жесткость более или менее одинакова и мало зависит от места отбора проб [20, 35].

Продолжительное время существовало мнение о том, что жесткость мяса обуславливается только содержанием в нем соединительной ткани и способностью ее главного фибриллярного компонента — коллагена при тепловой обработке превращаться в глютин. В противоположность этому в 1907 г. Леман [28] высказал предположение о влиянии на нежность мяса, кроме соединительной ткани, белков мышечных волокон.

Были проведены обширные исследования [34, 35, 40] с целью выяснения зависимости нежности почти всех мускулов говяжьей туши от содержания в них волокон коллагеновой и эластиновой соединительной ткани.

Полученные данные подтверждают наличие в большом числе случаев взаимозависимости между величиной сопротивления резанию мускула в вареном состоянии и содержанием в нем фибриллярных компонентов соединительной ткани. В табл. 5 по-

¹ фунт = 453,592 г.

казана взаимозависимость между содержанием оксипролина и нежностью мускулов крупного рогатого скота (по средним данным Лойда и Хайнера [37]).

Таблица 5

Мышцы	Оксипролин на 100 г мышцы, мг	Показатели нежности	
		сопротивление резины, фун- ты	дегустацион- ная оценка, баллы
Полусухожильная	92,3	10,79	5,5
Длиннейшая спины	53,6	7,60	6,0
Большая поясничная	24,3	3,85	6,6

Однако в ряде случаев была получена значительно меньшая взаимозависимость и оценка нежности по сопротивлению резанию в вареном состоянии не согласовывалась с содержанием коллагеновой и эластиновой соединительной ткани для многих мускулов.

Следовательно, соединительная ткань является существенным, но не единственным фактором, влияющим на нежность мяса.

Кроме того, по данным Пальмина и Боткиной [6], Вильсона, Брея и Филиппса [42], а также Лойда и Хайнера [29], мясо более старых животных содержит столько же или даже меньше соединительнотканых белков, чем мясо молодых животных. Поскольку мясо молодняка более нежное, чем мясо взрослых животных, ряд авторов [42, 33, 25, 26] пришли даже к такому выводу: количественное содержание коллагена и эластина в мускулах крупного рогатого скота не может являться показателем нежности мяса.

Известно, что тепловая обработка оказывает значительное воздействие на нежность мяса в целом и отдельных его составных частей. Поэтому, изучая изменения различных показателей мяса при его тепловой обработке, можно выявить компоненты, оказывающие влияние на его жесткость [2, 4].

Как показали многие исследования, тепловая обработка оказывает различное действие на отдельные части мясной туши. При одних и тех же условиях тепловой обработки нежность некоторых мускулов значительно увеличивается, а других — уменьшается. Ухудшение нежности наблюдается также по мере повышения температуры внутри продукта до 67—80°С [38, 15, 16, 19]. Различие настолько значительно, что некоторые авторы [10] пришли к выводу о невозможности заранее установить нежность вареного мяса на основании величин этого показателя для образцов, которые не подвергались тепловой обработке.

На основании экспериментальных данных Рамсботтома и Стрендайна можно объединить мускулы говяжьей туши в 3

группы в зависимости от влияния на них тепловой обработки. Средние значения показателей, характеризующие нежность мяса для этих групп, показаны в табл. 6.

Из приведенных данных можно сделать следующие выводы.

1. Повышение жесткости при тепловой обработке в основном наблюдается у более нежных в сыром и вареном состоянии мускулов, которые содержат в большинстве случаев небольшое или среднее количество коллагеновых волокон (26 случаев из 30) и мало эластиновых волокон (20 случаев из 30), вес мускулов этой группы составляет более 70% веса мышечной ткани туши. Наряду с нежными мускулами в эту группу входят некоторые мускулы, которые по органолептической оценке являются жесткими.

2. Жесткость мяса в процессе тепловой обработки практически не изменяется у мускулов с средним содержанием коллагеновых волокон (5 случаев из 9). Это явление не наблюдается у мускулов с малым содержанием коллагеновой соединительной ткани. Вес мускулов этой группы составляет около 20% веса всей мышечной ткани туши.

3. При тепловой обработке жесткость мяса уменьшается в тех случаях, когда мускулы содержат значительное количество волокон коллагеновой соединительной ткани (8 случаев из 11) и не наблюдается у мускулов, в которых мало коллагеновых волокон. Вес мускулов этой группы составляет менее 10% веса всей мышечной ткани туши. В этой группе исключение составляют три мускула, содержащие средние количества коллагеновой соединительной ткани.

Количество волокон эластиновой соединительной ткани не влияет на уменьшение жесткости мяса при его тепловой обработке [40, 35].

Лобанов и Климова [4] установили, что коллаген под действием тепла и воды легко и быстро превращается в глютин у мыши спинной части туши и в мясе молодняка. Значительно труднее это протекает у мышечной ткани покрывки и в мясе старых животных.

Отсюда авторы пришли к такому выводу: наряду с общим количеством соединительной ткани в мясе и соотношением в ней коллагена и эластина состояние коллагеновой соединительной ткани является фактором, в значительной мере влияющим на нежность подвергнутого тепловой обработке мяса. Состояние коллагеновой соединительной ткани характеризуется авторами количеством остаточного коллагена в вареном мясе.

Ковер и ее сотрудники в ряде работ [15, 36, 37, 17] исследовали влияние различных режимов тепловой обработки двух мускулов говяжьей туши на нежность находящейся в них соединительной ткани и содержание остаточного коллагена. Этими исследованиями были подтверждены выводы Лобанова.

Таблица 9

№ группы	Описание к тепловой обработке	Характерные мускулы в группе	Количество мускулов в группе	Средняя балла жесткости после тепловой обработки	Среднее соотношение после обработки		Среднее изменение соотношения разницы развития по фн	Разница соотношения развития, %	Среднее количество по волокон соединительной ткани, баллы		Удельный вес мускулов в группе, %
					до тепловой обработки	после обработки			коллагеновых	эластиновых	
1	Повышение жесткости	Psoas major, Rectus femoris, Longissimus dorsi	30	3,37	6,9	10,4	+3,5	+50,7	2	1	39,245 70,5
2	Жесткость не изменяется	Supraspinatus, Semitendinosus	9	2,78	10,5	10,7	+0,2	+1,9	2	2	10,980 19,7
3	Уменьшение жесткости	Trapezius, Brachiocephalicus, Cutaneous	11	2,27	15,7	11,5	-4,2	-26,7	3	2	5,400 9,8
Всего . . .											55,625 100,0

Примечание: Средний балл жесткости после тепловой обработки оценивался по 7-балльной системе, начиная с одного балла. Количество коллагеновых и эластиновых волокон соединительной ткани оценивалось по 3-балльной системе, начиная с одного балла.

Как известно, главными компонентами соединительной ткани являются: коллагеновые волокна, эластиновые волокна, ядра и аморфное, вязкое основное (межзоточное) вещество. Последнее состоит из мукополисахаридов и мукополисахарид-белковых комплексов, имеющих различную степень полимеризации. Назначение межзоточного вещества — удерживать фибриллярные и клеточные компоненты соединительной ткани в определенной структурной целостности. Степень его полимеризации обуславливает прочность соединительной ткани и ее устойчивость к воздействию различных факторов.

Ранее при исследовании влияния соединительной ткани на жесткость мяса изучали содержание только ее фибриллярных компонентов, т. е. коллагена и эластина, а состояние и количество межзоточного вещества не принимали во внимание.

Миллер и Кастелик [31] подвергли так называемую строму, полученную после извлечения из мяса большинства полноценных белков, ферментативному воздействию и пришли к выводу, что нерастворимая часть мышечной ткани содержит компонент, подвергающийся воздействию как протеолитического фермента папаина, так и гиалуронидазы. Следовательно, он обладает свойствами мукополисахарид-белкового комплекса. Поэтому есть основание считать, что лабильность соединительной ткани зависит скорее от ее аморфного компонента, чем от фибриллярного.

Мак-Интош [30] определяла содержание азота коллагена и эластина, а также гексозаминов основного вещества внутримышечной соединительной ткани в трех характерных мышцах различных пород крупного рогатого скота.

Средние данные о содержании основных компонентов соединительной ткани в трех характерных мышцах крупного рогатого скота представлены в табл. 7.

Таблица 7

Мышцы	Азот коллагена к общему азоту мышц, %	Азот эластина к общему азоту мышц, %	Отношение содержания гексозаминов к общему азоту мышц (мг./г. А-100) N общ
Большая поясничная	0,91	1,22	0,43
Длиннейшая спины	2,18	1,39	0,44
Полусухожильная	2,21	2,27	0,55

Автором была установлена отрицательная корреляция между количеством третьего компонента соединительной ткани и относительной нежностью изучавшихся мускулов.

Увеличение жесткости при тепловой обработке большинства мускулов говяжьей туши относится за счет уплотнения мышечных волокон при коагуляции полноценных белков. Это положение подтверждается также опытами Штейнера [39], который измерял жесткость вареного мяса. Им сделаны выводы о влиянии как свойств волокон соединительной ткани, так и свойств мышечных белков на величину механической прочности мускула поперек волокон.

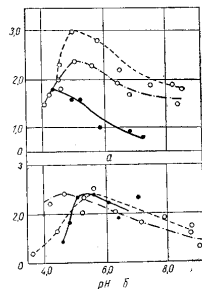


Рис. 1. Зависимость между рН и механической прочностью мяса (по Винклеру):

а — говяжье; б — свиное (усилие резания выражено в кг. дюйм/см² на 1 дюйм толщины образца).

ного диаметра с 52,9 мк при 61°С до 45,9 мк при 100°С. Следовательно, нежность определяется рядом факторов. Различия в химическом составе отдельных мускулов и свойствах мышечных и соединительнотканых белков оказывают решающее влияние на направление изменений нежности при тепловой обработке мяса.

Наиболее убедительное доказательство участия структурных полноценных белков мышечных волокон в нежности мяса — резкое изменение этого показателя при послеубойном и тепловом окоченении.

В тесной связи с данными о роли мышечных белков в изменении нежности мяса находятся результаты исследований о влиянии рН и степени гидратации на жесткость мускулов.

При испытании тех же образцов вдоль волокон на величину этого показателя оказывает влияние только соединительная ткань. При этом сопротивление резанию поперек волокон намного больше величины показателя при резании вдоль волокон. Прямые доказательства уплотнения мышечных волокон при их тепловой обработке, приводящего к увеличению жесткости мяса, были получены Ковер и сотрудниками [18]. Ими доказано, что после нагревания мускулов до внутренней температуры 61°С на площади в 1 мм² в среднем имеется 317 мышечных волокон, а при нагревании до 80°С это количество увеличивается до 410.

Увеличение количества мышечных волокон на единицу площади мускула сопровождается уменьшением их среднего диаметра с 52,9 мк при 61°С до 45,9 мк при 100°С. Следовательно, нежность определяется рядом факторов. Различия в химическом составе отдельных мускулов и свойствах мышечных и соединительнотканых белков оказывают решающее влияние на направление изменений нежности при тепловой обработке мяса.

Винклер [43] доводил рН образцов сырого свиного и говяжьего мяса до различных значений путем инъекции растворов молочной кислоты или аммиака. Результаты показали, что максимум жесткости мяса наблюдается при рН 5,0—5,5. Смещение рН в ту или другую сторону приводит к повышению нежности мяса (рис. 1).

Результаты, очень близкие с указанными выше, были сообщены Боутоном, Говардом и Лоури [11]. Эти авторы посредством предубойной обработки получили мышечную ткань, имеющую конечные величины рН в интервалах от 5,5 до 6,5. При этом

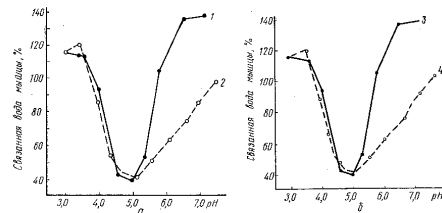


Рис. 2. Изменение гидратации мяса в зависимости от величины рН (Гамм):

а — продолжительность после убоя в часах: 1 — через 2 ч; 2 — через 24 ч; б — в днях: 3 — через 1 день; 4 — через 7 дней.

увеличение рН было связано с понижением количества выделяющегося сока. Минимальная нежность наблюдалась при рН 5,8.

Такое явление, очевидно, связано с изменением влагопоглощающей способности белков мышечных волокон вблизи их изоэлектрической точки.

Так, по данным Пальмина [5], охлажденное мясо именно в этом интервале рН (5,4—5,6) поглощает минимальное количество влаги и по мере возрастания рН до 6,6 влагопоглощаемость увеличивается более чем в 2 раза. Одновременно с изменением набухания мясного фарша меняется и количество влаги, удерживаемой им при варке.

Гамм [21, 22] также исследовал изменения гидратации и жесткости мяса в зависимости от рН.

Как видно из представленных на рисунках 2, а и б данных, минимум гидратации сырого парного, охлажденного и созревшего мяса лежит при рН 5,0.

Для объяснения наблюдаемых изменений гидратации автором предложены такие термины.

Гидратационный эффект чистого заряда — изменение гидратации, при котором связывается или отдается количество воды, соответствующее возрастанию или сокращению заряда белка.

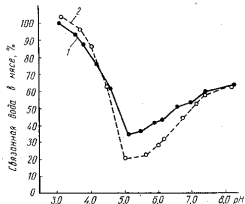
Стереоз эффект гидратации, который обусловлен изменением пространственной доступности заряженных групп белков. С изменением чистого заряда связано разрыхление или уплотнение структуры белка, так как отталкивание одноименно заряженных остатков аминокислот приводит к расширению пространства между полипептидными цепями, а притяжение противоположно заряженных групп — к их сближению.

В случае гидратации мышцы эффект чистого заряда всегда сопровождается стереоз эффектом, но последний значительно превосходит первый по своему участию в общей гидратации. Автором была также установлена обратная зависимость гидратации мяса от его жесткости.

Гамм и Детерейдж [23] изучали изменения гидратации и заряда мышечных белков в процессе тепловой обработки мяса (рис. 3, 4, 5), определяя изоэлектрическую точку ткани по минимуму ее гидратации.

Рис. 3. Влияние pH на способность мяса связывать воду после нагревания (Гамм и Детерейдж):

1 — без нагревания; 2 — при нагреве до 40° С.



Исследование влияния мягких условий нагревания (40° С) на кривую pH — гидратация мяса не показало сдвига изоточки, но влагоудерживающая способность при этом заметно уменьшилась (рис. 3). Интересно отметить, что нагретый при 40° С мускул не теряет свою способность удерживать воду при $\text{pH} \leq 4,5$ и $\geq 7,0$.

При этом более высокая гидратация в интервале $\text{pH} \leq 3,0$ может быть объяснена разворачиванием пептидных цепей, увеличивающих количество свободных белковых зарядов. Нагревание от 40 до 45° С вызывает дальнейшее уменьшение гидратации мяса (рис. 4).

Уменьшение влагоудерживающей способности при значениях pH выше изоточки, а также ее увеличение при $\text{pH} \leq 4,5$ указывает на исчезновение кислотных групп во время нагревания при 45° С. Это подтверждается полученными авторами экспериментальными данными (рис. 5). При значениях pH выше изоточки

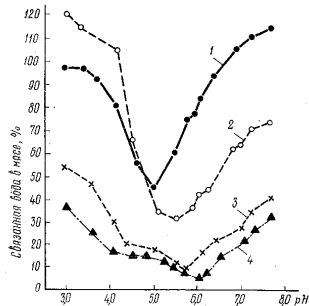


Рис. 4. Влияние pH на способность мяса связывать воду при различных температурах (Гамм и Детерейдж):

1 — 20° С; 2 — 45° С; 3 — 60° С; 4 — 80° С.

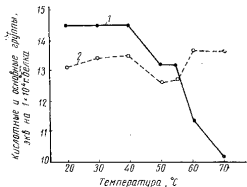
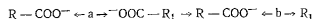


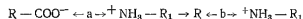
Рис. 5. Влияние температуры, при которой проводилась тепловая обработка мяса, на количество кислотных и основных групп белков (Гамм и Детерейдж):

1 — кислотные группы; 2 — основные группы.

уменьшение отрицательных белковых зарядов приводит к уменьшению электростатического отталкивания между пептидными цепями и образованию плотной сетки белковой структуры. Этим объясняется более низкая влагоудерживающая способность:



При значениях pH ниже изоточки уменьшение отрицательных белковых зарядов приводит к разрушению поперечных солевых связей, что в свою очередь вызывает разрыхление белковой структуры и, следовательно, увеличение влагоудерживающей способности:



При тепловой обработке наблюдается уменьшение количества карбоксильных групп, которое вызывает заметный сдвиг изоточки в сторону более высоких значений pH (см. рис. 5), так как при этом увеличиваются щелочные свойства белков. Между 45 и 80°С продолжается уменьшение количества кислотных групп, смещение изоточки мышцы в сторону более высоких величин pH (до 60°С) и уменьшение влагоудерживающей способности мяса при всех значениях pH. Эти обстоятельства указывают на сокращение имеющихся в наличии полярных групп и, вероятно, на образование новых устойчивых поперечных связей, которое приводит к дальнейшему уплотнению сетки белковой структуры. Дальнейшее нагревание мяса от 60 до 80°С вызывает только небольшие изменения гидратации мышцы.

Направление указанных изменений гидратации находится в соответствии с практическими наблюдениями Ковер и сотрудников [46]. Установлено, что сопротивление резанию для хорошо прожаренных образцов мяса значительно выше, чем для недожаренных. Кроме того, не наблюдается различий жесткости этих образцов в результате тепловой обработки при 80 и 100°С.

Однако нежность мяса при смещении pH в кислую сторону от изоточки мышцы увеличивается не только в результате увеличения гидратации мышечных белков. Слабые растворы кислот также ускоряют гидротермическое расщепление коллагена при pH 2,5—3,2 [59]. При такой обработке и последующей варке в течение 1 ч расщепление белка строми увеличивается до 68—76% против 15% в контрольных образцах.

На гидратацию и нежность мышечной ткани оказывают влияние также и нейтральные соли: добавление хлоридов Na, K, Ca и Mg к мясу перед его варкой увеличивает влагоудерживающую способность [41]. При этом Ca и Mg имеют больший эффект, чем Na и K. Наиболее эффективной оказалось сочетание Mg и Na. Этому действо способствуют анионы NO₂ и NO₃. Жесткое говяжье мясо, обработанное раствором, содержащим эти веще-

ства, становилось более нежным и при его дефростации практически не наблюдалось отделения сока. Некоторые полифосфаты также увеличивают нежность мяса [1, 27].

На основании приведенного материала можно сделать такие выводы.

Нежность мяса зависит от многих факторов прижизненного характера и передается у животных по наследству.

Прежде всего ее определяет структура мышечной ткани: по мере увеличения диаметра мышечных волокон нежность уменьшается.

Велико влияние факторов, обусловленных химическим составом мяса. Количественное содержание коллагеновой соединительной ткани — один из решающих факторов. Качественное состояние коллагеновой соединительной ткани зависит от степени полимеризации основного (межучточного) вещества (мукополисахарид-белкового комплекса). От него зависит способность коллагена к развариванию и устранимая в той или иной степени при тепловой обработке жесткость мяса.

Увеличение содержания эластиновой соединительной ткани повышает жесткость мяса, которая не устраняется при тепловой обработке. Максимум жесткости мышечной ткани наблюдается вблизи изoeлектрической точки мышечных белков (pH 5,0—5,8). При смещении pH в ту или другую сторону от этого интервала мясо становится более нежным.

Нежность мяса зависит от степени гидратации мышечных белков. Она возрастает по мере увеличения содержания в мясе связанной воды и уменьшения количества выделяющегося при варке сока.

Структурные мышечные белки (миозин, актин и актомиозин) денатурируются при коагуляции в процессе термического воздействия на мясо, в связи с чем мышечная ткань уплотняется и увеличивается жесткость мяса, приобретаемая при его тепловой обработке.

Содержание межмышечного жира (мраморность мяса) не оказывает решающего влияния на нежность мяса как в сыром, так и в вареном виде.

В ряде случаев нельзя получить нежное мясо при помощи тепловой обработки. Для этого необходимо провести процесс его созревания естественным или искусственным путем (с применением протеолитических ферментов). Кроме того, необходимо ввести в продукт некоторое количество минеральных солей и органических веществ, увеличивающих степень его гидратации и смещающих pH в ту или другую сторону от изoeлектрической точки мышечных белков или же подвергнуть механической обработке.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА ВЕЩЕСТВ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИХ ВКУС И АРОМАТ МЯСА

Выяснение химической природы веществ, обуславливающих вкус и аромат пищевых продуктов вообще и мяса и мясopодуrков в частности, является одной из наиболее сложных задач биохимии. Поскольку эти вещества чаще всего находятся в продуктах в ничтожно малых количествах, обычные методы аналитической химии не всегда могут дать положительные результаты. Поэтому стали применять новые методы исследования.

Несмотря на многообразие веществ, придающих вкус и аромат пищевым продуктам, имеются характерные для них общие свойства [16].

Ароматические продукты обычно состоят из многих компонентов, и аромат обуславливает не одно какое-либо вещество, а многие, образующие «букет» аромата того или другого продукта.

Вкусовые и ароматические вещества содержатся в пищевых продуктах в крайне низких концентрациях. Например, диасетил обнаруживается обонянием при разбавлении 1 части на 40 млн. частей воды, а метилмеркаптан имеет свой запаховый порог при разбавлении 1 части на 20 млрд. частей воды.

Ароматические вещества высоко специфичны по своей молекулярной конфигурации и даже самые небольшие изменения в их составе или строении приводят к значительным качественным и количественным изменениям аромата.

Ароматические вещества являются лабильными, термически неустойчивыми соединениями, легко поддающимися окислению. По этим причинам выделение, фракционирование и идентификация ароматических продуктов связаны с большими трудностями.

Одним из наиболее интересных фактов в области изучения природы веществ, обуславливающих вкус и аромат мяса, является резкое изменение этих свойств при тепловой обработке мяса. Недавно был опубликован краткий обзор о природе веществ, обуславливающих запах мяса [1].

Известно, что интенсивность вкуса и аромата говяжьего мяса усиливается с возрастом животного, начиная с 8—11 месяцев до 30—32 месяцев [6, 25] и, кроме того, в говяжьем мясе они

улучшаются в процессе созревания. Крупные отруба мяса при варке дают больше аромата, чем мелкие [11].

Буотун, Говард и Лоури [12] установили, что по мере повышения pH в пределах 5,5—6,5 органолептическая оценка вкуса и аромата снижается с 5,1 до 4,0 балла.

Ряд исследований был посвящен выяснению вопроса о том, из каких компонентов мяса при его тепловой обработке развиваются характерные вкус и аромат. Одной из первых попыток установить источники образования характерных вкуса и аромата при тепловой обработке мяса была работа Крокера [12]. Однако его вывод о том, что главным их источником являются сами мышечные волокна, а не их мясной сок, впоследствии не был подтвержден.

Пиппен и сотрудники [31] изучали участие отдельных морфологических компонентов куриной тушки в развитии характерных вкуса и аромата при тепловой обработке и установили, что главным источником их образования является мышечная ткань.

Эти данные находятся в соответствии с выводом многих других авторов [30, 11, 20]. Вещества, из которых образуются вкусовые и ароматические продукты, экстрагируются из мышечной ткани холодной водой [30, 31, 20, 17]. 60%-ным метиловым спиртом [11] и присутствуют в диализуемой части экстракта [7, 18].

Установлено также [4], что вкус и аромат мясного бульона развиваются при нагревании ультрафильтрата вытяжки, полученной при экстрагировании мяса холодной водой. Это наблюдение было подтверждено опытами Лобанова [3].

Следовательно, вещества, ответственные за вкус и аромат вареного мяса, а также те вещества сырого мяса, из которых возникают вкусовые и ароматические продукты при тепловой обработке, имеют низкомолекулярную природу. Они должны быть отнесены к группе экстрактивных веществ, и чистый мясной белок не может рассматриваться в качестве источника их образования [11, 14]. Некоторым подтверждением приведенной точки зрения Крокера является тот факт, что тепловая обработка мяса до его экстракции холодной водой (т. е. совместное нагревание сока и волокон) несколько усиливает интенсивность вкуса и аромата [20].

Работы Пиппена и сотрудников [31], а также Хорнстейна и Кроу [18] установили участие жира в образовании букета аромата (но не вкуса) мясного бульона [11].

При исследовании говяжьего, свиного и куриного мяса [8, 18] обнаружена идентичность основных компонентов вкусовых и ароматических продуктов.

Хотя вкус и аромат сырого мяса выражены весьма слабо, были предприняты попытки идентифицировать химические ком-

поненты, принимающие участие в их образовании. Компонентом запаха сырого мяса, очевидно, является молочная кислота. В составе летучих компонентов сырого говяжьего мяса были найдены [24] ацетальдегид, ацетон, метилэтилкетон. Имеются следы этилового и метилового спиртов, метил-, диметил- и этилмеркаптанов.

При изучении химического состава летучих компонентов пищевых животных жиров было установлено [13, 18, 29] коренное отличие ароматических продуктов свежего (недезодорированного) говяжьего жира от соответствующих компонентов дезодорированного и окислившегося жиров. Эти продукты дают положительную реакцию с реагентами, указывающими на присутствие карбоновой группы. Инфракрасный спектр поглощения их растворов в четыреххлористом углероде указывает на возможное присутствие гидроксильных и карбонильных групп, простого и сложного эфиров, сопряженных двойных связей, углевода, связанного с азотом, и шестичленного лактонного кольца [13].

Паттон и сотрудники [29] идентифицировали среди летучих компонентов парового дистиллата дезодорированных свиного и говяжьего жиров в качестве основной составной части *n*-дека-2,4-диеналь. При этом авторы отмечают, что синтетический образец указанного альдегида имеет резко выраженный запах поджаривания. Присутствие диенала было также отмечено [33] в курином жире. Высокие температуры (200—250° С) благоприятствуют образованию этого соединения. Имеются доказательства [29, 35] его образования при разложении линолеата. Пороговая концентрация запаха его растворов в воде составляет приблизительно 0,5 части на 1 млрд. Эти интенсивно выраженные ароматические свойства соединения свидетельствуют о его значении в аромате ряда мясопродуктов, особенно, когда жир соприкасается с влагой при относительно высоких температурах.

При исследовании летучих компонентов подвергнутого тепловой обработке мяса и мясного бульона было установлено, что аминокислоты не могут рассматриваться в качестве непосредственных компонентов вкуса и аромата мяса [18]. Однако необходимо учитывать весьма существенное исключение: возможность образования при распаде глутамината [9] глутаминовой кислоты, имеющей прямое отношение к вкусу мясного бульона. Физико-химические и органолептические свойства глутаминовой кислоты и ее монариевой соли хорошо известны и суммированы в обзоре литературы по этому вопросу [5].

При исследовании растворов глутаминовой кислоты было установлено [15], что при pH 6,25 она находится исключительно в виде своей однозамещенной соли. Однако в мясе могут иметь место несколько иные условия, благодаря которым эта величина pH будет сдвинута.

Высказывалось также мнение [14] о значении летучих аминов в образовании вкуса и аромата вареного мяса. Метиламин в крайне незначительных количествах действительно был идентифицирован [17] среди летучих компонентов продуктов пиролиза, высушенного сублимацией водного экстракта из говяжьего мяса. Однако ароматические продукты вареного мяса являются летучими только из подкисленного раствора. Таким образом, они имеют природу веществ, обладающих не щелочными, а кислотными или нейтральными свойствами [9, 10, 32]. Среди летучих компонентов вареного мяса не были найдены спирты и сложные эфиры [19].

Бутилет [10] впервые доказал присутствие летучих кислот среди компонентов аромата куриного бульона. При этом более растворимая в воде их фракция имела запах, напоминающий аромат говяжьего, а не куриного мяса.

Юе и Стронг [19] путем газовой хроматографии метиловых эфиров соответствующих кислот получили доказательства присутствия среди летучих составных частей вареного говяжьего мяса муравьиной, уксусной, пропионовой, масляной и изомасляной кислот. Эти вещества освобождаются при нагревании мяса в количестве приблизительно 1 *мкг* кислоты на 1 *кг* свежего мяса. Факт образования при варке мяса этих летучих кислот, безусловно, свидетельствует об их участии в букете вкуса и аромата мясного бульона.

Сравнивая летучие жирные кислоты, выделенные из мяса, с составом жирных кислот, образующихся при нагревании жира, можно установить, что последний не может быть источником образования присутствующих в вареном мясе летучих кислот.

Из сернистых соединений, оказывающих влияние на вкус и аромат вареного мяса, прежде всего следует отметить глутатион, растворы препаратов которого, нагретые до 60° С, обладают вкусом и ароматом мяса. Обращает на себя внимание лабильность глутатиона и его свойство разлагаться при кипячении с водой. Однако, как показал Бутилет [11], нет уверенности в том, что указанные вкусовые и ароматические свойства препаратов присущи самому глутатиону, а не содержащимся примесям.

В литературе [27, 28] имеются также указания на то, что метиональ (3-метилмеркаптопропиональдегид) обладает достаточно выраженным вкусом и ароматом вареного мяса и мясного бульона. Вкусовой порог этого вещества составляет 50 частей на 1 млрд. Метиональ может образоваться при тепловой обработке мяса благодаря распаду метионина или путем соединения метилмеркаптана с акролеином. Была доказана чистота препаратов метионаля, с которыми выполнялись эти опыты [27, 28, 26], и установлено, что запах действительно присущ ему.

Таким образом, участие метионаля в букете аромата мяса является весьма вероятным.

Бутилет [10, 11] убедительно доказал, что летучие сернистые органические соединения участвуют в аромате вареного мяса кур. Когда в раствор этих соединений пропускали кислород, развивался типичный аромат куриного бульона, усиливающийся при поджигании. Кроме того, при стоянии дистиллятов непрерывно происходила десульфитация содержащихся в них сернистых соединений с выделением H_2S . При помощи методов газовой и бумажной хроматографии среди летучих компонентов вареного говяжьего мяса были изолированы метилсульфид [21] и диметилсульфид [19].

Рядом исследований среди летучих компонентов вареного мяса установлено наличие ацетальдегида [34, 21, 19, 17, 18], ацетона [21, 19, 17, 18], формальдегида [21, 18] и диацетила [34, 19].

Пиппен и Нонака [34] более подробно изучили состав летучих карбониллов вареного мяса кур и куриных бульонов.

При помощи методов хроматографии на бумаге, инфракрасной спектрометрии и определения точки плавления гидразонов были идентифицированы в качестве главных составных частей смеси карбониллов куриного бульона: ацетальдегид, Н-гексанол, альдегиды, имеющие в своем составе 16 и 18 углеродных атомов, Н-дека-2,4-диеналь и диацетил.

При помощи хроматографии на бумаге, как известно, еще не дающей полной уверенности в идентичности найденных соединений, было показано возможное присутствие в курином бульоне 14 карбонильных соединений, среди которых имеются три кетона и 7 непредельных альдегидов. Общая концентрация содержащихся в бульонах карбониллов составляет в среднем 14×10^{-5} моль на 1 л. Присутствие среди выделенных карбониллов таких ароматических веществ, как диацетил и Н-дека-2,4-диеналь, свидетельствует о прямом отношении этой фракции к аромату мяса.

При тепловой обработке в воде свежего дробкокачественного мяса кур увеличивается количество фракции летучих карбониллов. Это является дополнительным доказательством их участия в аромате и вкусе вареного мяса. Вместе с этим отмечается отсутствие тождества вкусовых и ароматических свойств выделенных карбониллов и вареного мяса. Это, очевидно, объясняется очень широким спектром смеси веществ, образующих типичный для мяса кур аромат.

Кроме того, необходимо учитывать, что в состав этой смеси веществ, по-видимому, входят также продукты вторичных реакций карбониллов. Лобанов и Вольфсон [3] установили, что при варке мяса протекает реакция меланоидинообразования. В ней принимают участие, с одной стороны, глюкоза и глюкозо-6-фосфат и, с другой, — 10 изучавшихся аминокислот.

В модельных опытах авторов с имеющимися в бульоне концентрациями веществ данная реакция приводила к образованию

запаха, различного для каждой индивидуальной аминокислоты. Например, при нагревании раствора валина и глюкозы был отмечен запах миндаля, а растворы лизина или аргинина и глюкозы давали отчетливо выраженный запах хлеба.

Эти данные впоследствии подтвердил Мей [22, 23]. Он обнаружил, что при кипячении растворов, в которых содержатся альдегиды и аминокислоты, в интервале pH от 2,0 до 7,0 образуются вещества, обладающие характерными для мяса вкусом и ароматом. Для образования веществ, обладающих вкусом мяса, необходимо наличие уксусного, пропионового и глицеринового альдегидов и цистеина. Кроме того, в смесь веществ, участвующих в реакции, должны входить одна из четырех аминокислот: аргинин, глутаминовая кислота, пролин и гистидин, а также, по крайней мере, три из следующих аминокислот: глицин, аланин, треонин, лизин, лейцин, изолейцин, серин, валин и цистин.

По данным автора, для развития аромата мяса при тех же условиях требуется наличие, с одной стороны, фурфурола, фурана, фурфурилового спирта и фурфуриламина. С другой стороны — цистеина как обязательного компонента смеси; одной из таких аминокислот, как аргинина, глутаминовой кислоты и пролина, а также трех из следующих аминокислот: глицин, аланин, треонин, лизин, лейцин, изолейцин, серин, валин, цистин и гистидин.

Учитывая многообразие присутствующих в мясном бульоне карбониллов, есть основание рассматривать продукты этой реакции в качестве возможных компонентов вкуса и аромата, образующихся при тепловой обработке мяса.

Еще в 1907 г. русским ученым Кримбергом [2] был отмечен приятный вкус, напоминающий мясной отвар у растворов инозиновой кислоты. Следовательно, данное соединение является одним из вкусовых продуктов вареного мяса.

Однако имеются сомнения, самой ли инозиновой кислоте или же продуктам ее распада присущи эти свойства.

При изучении изменений фракций пуринового азота в процессе созревания мяса установлено [4], что улучшение при этом его вкусовых свойств протекает параллельно с изменениями нуклеотидов и образованием свободного гипоксантина.

Недавно выполненными исследованиями [7, 8] было подтверждено исключительное значение инозиновой кислоты или продуктов ее распада в образовании вкуса и аромата вареного мяса. Выявлена также корреляция между содержанием гипоксантина и органолептической оценкой мяса. Кроме того, установлено наличие у гуаниловой кислоты [36] указанных свойств.

Батцлером и Санторо [7, 8] было найдено, что некоторые так называемые предшественники вкуса и аромата подвергнутого тепловой обработке говяжьего мяса представляют собой смесь инозиновой кислоты, глюкозы и водорастворимого глюкотеина.

на. Нагревание в воде и в жире смеси этих компонентов приводило к образованию специфического для данного вида тепловой обработки вкуса и аромата мяса. Причем, меняя соотношения между ними, можно несколько изменить и характер вкуса и аромата.

Когда вместо глюконопротеина использовали смесь аминокислот, входящих в его состав, при последующем нагревании в воде или в жире получался такой же результат. Следовательно, не сам глюконопротеин, а входящие в его состав аминокислоты участвуют в реакции.

В составе глюконопротеина были идентифицированы пролин, серин, лейцин (изолейцин), валин, аланин, β -аланин и два неизвестных соединения (из них одно, содержащее серу). Поэтому можно полагать, что указанные аминокислоты являются необходимыми составными частями смеси веществ, из которой при варке образуются характерные вкус и аромат мяса. Эта работа указывает на возможность связи между ролью инозиновой кислоты или продуктов ее распада и отмеченным выше значением реакции меланоидинообразования в химизме рассматриваемых нами процессов.

Суммируя результаты исследований, можно сделать выводы.

1. Вещества, обуславливающие образование при тепловой обработке характерных вкуса и аромата мяса, содержатся в мышечной ткани в виде так называемых предшественников и проявляются при тепловой обработке. Они образуются и накапливаются в процессе автолиза при созревании мяса.

2. Эти вещества растворяются в воде, проходят через полупроницаемую мембрану при диализе и ультрафильтрации. Следовательно, они имеют низкомолекулярную природу и относятся к группе экстрактивных веществ. Однако совместное нагревание водорастворимой фракции мяса с белками мышечных волокон усиливает интенсивность специфического мясного вкуса и аромата.

3. Жир способствует развитию аромата, но не вкуса, подвергнутой тепловой обработке мяса.

4. Система веществ, обуславливающих проявление при тепловой обработке мяса характерных для него вкуса и аромата, является многокомпонентной, причем основные ее компоненты одинаковы для говяжьего, свиного и куриного мяса.

5. К компонентам этой системы относятся: инозиновая и гуаниловая кислоты или продукты их распада; глютаминовая кислота и ее соли; летучие соединения, содержащие тиоловые группы; летучие карбониллы; летучие жирные кислоты; продукты, получающиеся в результате взаимодействия карбонильных соединений с аминокислотами.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ МЯСА И ЕГО СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПРОЦЕССАХ ОКОЧЕНЕНИЯ И СОЗРЕВАНИЯ

В настоящее время еще нет твердо установленных микроскопических показателей развития и полной зрелости мяса или улучшения его консистенции при применении протеолитических ферментов. Также не выявлены структурные различия распада тканей при созревании мяса под действием тканевых протеолитических ферментов и ферментов гнилостных микробов.

Разрешение этой проблемы имеет не только теоретическое, но и большое практическое значение.

По морфологическим данным, подтвержденным биохимическими исследованиями, нами сделана попытка восполнить некоторый пробел в определении сущности и последовательности проявления посмертных структурных изменений, протекающих в мышцах и обуславливающих процесс его созревания.

Сопоставление научных данных, полученных с помощью электронной микроскопии, с результатами наших исследований позволило прийти к нескольким иному представлению о процессах, обуславливающих созревание мяса в обычных условиях и при интенсификации их протеолитическими ферментами [11, 12, 15, 19, 20, 21, 22].

По данным ряда исследователей [2, 10, 13, 14, 18], каждая скелетная мышца туши убойных животных состоит из многих тысяч и нередко миллионов мышечных волокон преимущественно цилиндрической формы. Они связаны между собой в пучки соединительной тканью (эндомизием и перемизием), придающих мышцам форму, соответствующую выполняемым ими в организме функциям. В соединительнотканной строме мышц располагаются жировая ткань, кровеносные и лимфатические сосуды, капилляры и нервы.

По выполнению жизненных функций организма мышцы подразделяют на высокочастотные и низкочастотные, динамические и статодинамические.

Высокочастотные мышцы светлые, бедные миоглобином и саркоплазмой, но богатые миофибриллами. Они более сильные,

чем темные мышцы, но менее выносливые (быстро утомляются вследствие частого и быстрого сокращения). Волокна высокочастотных мышц сокращаются на 4% своей длины. Низкочастотные мышцы темные, богатые миоглобином и саркоплазмой и более выносливые. Их волокна медленно и сильно сокращаются на 40% своей длины. Мышцы, производящие различные движения тела, называются динамическими, а укрепляющие скелет в определенном положении и сохраняющие форму тела животного и его позу — статодинамическими. Кроме того, различают тонковолокнистые и толстоволокнистые мышцы. Однако в одной и той же мышце рядом встречаются оба вида волокон.

Мышцы никогда не сокращаются поодиночке, они всегда действуют группами, а их волокна сокращаются отдельно, попеременно с тем, чтобы восстановить свое исходное состояние до последующего вступления в работу.

Рабочей и структурной единицей скелетной мышцы является волокно сложного строения [4].

Длина волокон колеблется в пределах от 2 до 160 мм, а толщина от 10 до 150 мк. Это зависит от вида животного, возраста, упитанности и, главным образом, от выполняемой мышцей функции.

В каждом волокне различают: наружную оболочку, образующую эндомизию из коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон; внутреннюю собственную оболочку волокна — сарколемму, саркоплазму с многочисленными ядрами и миофибриллы (рис. 6).

Сарколемма — очень тонкая (400—700 Å), двуслойная, бесструктурная, прозрачная и эластичная оболочка. Она может удлиниться, как и волокно, в 2,2 раза и довольно устойчива к действию щелочей, кислот, к кипячению и поэтому является надежной защитой волокна от различных воздействий.

В саркоплазме по краям волокна находятся ядра овальной, иногда слегка вытянутой формы с ядрышками и хроматиновыми зернами, саркоплазматическая сеть, митохондрии (саркосомы), рибонуклеопротеидные гранулы, гликоген и обладающие способностью к сокращению пучки миофибрилл различных порядков.

Миофибриллы представляют собой белковые (миозин и актин) цилиндрической формы структуры, придающие волокну продольную исчерченность. Толщина миофибрилл у большинства животных колеблется от 1 до 3 мк. Каждая миофибрилла состоит из правильно чередующихся светлых изотропных *U* дисков (длина 0,8 мк) и темных анизотропных *A* дисков (длина 1,5 мк), различных по своим химическим и физическим свойствам. Этими дисками и обуславливается поперечная полосатость мышечных волокон. Каждый светлый и темный диск мышечного волокна в свою очередь разделен пополам в поперечном направлении мембраной, соединяющейся с сарколеммой.

В светлом диске *U* мембрана темная и называется телофрагмой *T*, или полоской *L*, в темном диске *A* мембрана более светлая и называется мезофрагмой *M*, или полоской *H*.

Указанными мембранами и сарколеммой диски миофибриллы удерживаются на одном уровне при их сокращении, причем светлые диски при полном сокращении мускульного волокна почти полностью исчезают, а размер темных дисков укорачивается незначительно (рис. 7) [2, 3].

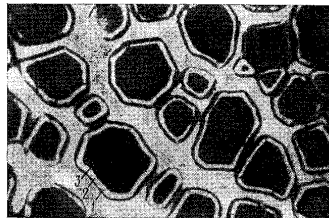


Рис. 6. Микроскопическое строение волокна поперечно-полосатой мышцы в поперечном разрезе:

1 — оболочка волокна из коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон; 2 — бесструктурная прозрачная сарколемма; 3 — саркоплазма с ядрами и миофибриллами. (Окраска: импреггация серебром. Увеличение: объектив — 40; окуляр — 15).

Миофибриллы мышечного волокна в свою очередь состоят из тончайших светлых и темных дисков — протофибрилл (миофиламентов) толщиной 200 Å.

Поперечно-полосатое волокно и его миофибриллы распадаются по полоскам *Z* на множество мелких сегментов. Эти сегменты, расположенные между двумя смежными полосками *Z*, называют саркомерами. Они представляют собой структурные единицы волокна и образуются при конечном его распаде, наблюдаемом в обычном микроскопе. Длина саркомеров у высокочастотных мышц не превышает 2 мк, а у низкочастотных мышц — 4 мк.

Беспорным доказательством наличия в мышечном волокне структурных единиц, называемых саркомерами, служит распад мышечного волокна на равные сегменты при осторожном воздействии однопроцентной уксусной кислоты, углекислого калия, или же пищеварительных ферментов.

Необходимо отметить, что конечному распаду миофибрилл на инокоммы-саркомеры предшествует первоначальный распад поперечно-полосатого волокна под действием указанных выше веществ на крупные саркомеры, равные или несколько превышающие диаметр волокна (от 10 до 150 мк). Этот первоначальный распад описывается нами впервые. Другими исследователями этот факт оставался незамеченным или же рассматривался как разрывы волокон и артефакты [16, 17].

По интенсивности первоначального распада мышечных волокон нами определяется степень зрелости мяса.



Рис. 7. Электронная микрография (Гилев) миофибриллы мышечного волокна на разных стадиях сокращения: 1 — начальная; 2 — промежуточная; 3 — конечная; 4 — светлый диск; М — мезофрагма.

Коллагеновое волокно [5] является структурным элементом коллагеновой соединительной ткани и состоит из субмикроскопических фибрилл с поперечной исчерченностью и правильным чередованием светлых и темных полос (рис. 8).

Наличие оболочки на фибриллах и в волокне обуславливает более устойчивую конструкцию коллагенового волокна. Эластические волокна, как и коллагеновые [12], также имеют фибриллярное строение, причем отдельные фибриллы обнаруживают поперечную исчерченность сходного периода. Ретикулиновые фибриллы (при серебрении) не имеют такого правильного периода поперечной исчерченности, который свойствен коллагену.

Современные теории изменений поперечно-полосатых мышц в период их сокращения не дают четкого и ясного представления о сущности механизма этого сложного процесса. В настоящее время берется за основу гипотетическая схема сокращения мы-

шечного волокна, разработанная Гексли [15]. Если для первых стадий прижизненного сокращения мышц (по Гексли) предполагается скопление субъединиц саркомера друг относительно друга, а для последних стадий (по Гилеву) наиболее вероятна спирализация этих структур [3], то для посмертного сокращения — окоченения мышц механизм структурных изменений совершенно не выяснен [10]. Мы полагаем, что для посмертного сокращения мышц наиболее вероятной является теория спирализации с уменьшением объема волокон.

Неясность этого весьма важного вопроса отражается отрицательно на понимании и оценке причин посмертных структурных изменений в поперечно-полосатых мышцах, происходящих при окоченении и созревании мяса.

Микроскопические изменения, характеризующие состояние послеубойного окоченения мышечных волокон у крупного рогатого скота, описали впервые в 1940 г. Керри [11] и в 1944 г. Пауль и сотрудники [17]. Эти авторы считали, что при наступлении окоченения некоторые волокна являются активными и сокращаются с образованием узлов и характерных зон сокращения и ослабления, в то время как другие, будучи пассивными, приобретают за счет первых волнистый или перекрученный внешний вид, который характеризуется наличием изгибов, зигзагов и диагональных полосок.

Сразу же после убоя границы волокон в мышцах были плохо различимы и волокна имели прямую или слегка волнистую форму с заметной продольной исчерченностью. После одного дня хранения мышечные волокна и их поперечная исчерченность становились более заметны, а продольная — менее выраженной.

В процессе созревания мяса исчезновение окоченения микроскопически характеризовалось авторами по появлению разрывов в так называемых пассивно сокращенных волокнах и по дезинтеграции мускульной протоплазмы в активно сокращенных волокнах.

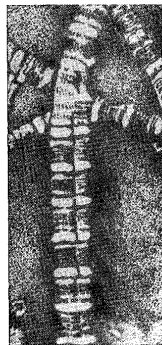


Рис. 8. Электронная микрография (Минуилова). Миофибриллы коллагенового волокна с правильным чередованием сегментов-саркомеров.

По данным авторов [17], на дезинтегрированных участках мускульных волокон утрачивается как продольная, так и поперечная исчерченность, саркоплазма принимает зернистый вид.

Размеры гранулированных участков увеличивались в процессе хранения мяса, особенно на 9-й день.

Природа разрывов мускульных волокон, дезинтеграции и их зернистого распада авторами окончательно не была установлена.

Термическая обработка ускоряет распад тканей после воздействия на мясо протеолитических ферментов. При этом необходимо учитывать, что соединительная оболочка и сарколемма не разрушаются ни при созревании, ни при варке мяса.

Многие исследователи [16, 19, 20, 21, 22, 23] установили пригодность гистометода для характеристики влияния протеолитического фермента, установления избирательного действия его на ткани и ядра, а также выявления степени окоченения и созревания мяса.

По их данным, размягчение мяса после воздействия на него протеолитических ферментов характеризуется исчезновением поперечной и продольной исчерченности мускульных волокон, расплавлением или распадом их ядер. Мускульная ткань принимает зернистый вид, соединительная ткань распадается.

Неясность причин, вызывающих указанные изменения, а также значения и последовательности наблюдаемых явлений вызвала необходимость более детального изучения вопроса [1, 8, 9].

Проведенные опыты в комплексе с биохимическими и физико-химическими исследованиями дали возможность по структурным изменениям тканей определить фазы и составляющие их этапы развития процессов окоченения и созревания и установить оптимальные сроки наступления полной зрелости мяса. Все это позволяет обосновать и ускорить решение вопроса об интенсификации процесса улучшения консистенции при созревании мяса путем применения протеолитических ферментов [7, 8, 9].

Наши исследования показали, что после убоя животного в одной и той же мышце, в рядом лежащих отдельных мышечных волокнах или группе волокон происходят последовательно, а не одновременно одни и те же структурные изменения. Это обуславливается тем, что волокна в мышце бывают различны по своим размерам, количеству и расположению в них миофибрилл и саркоплазмы. Чем тоньше волокно, больше в нем миофибрилл и меньше саркоплазмы, тем раньше и сильнее проявляются структурные изменения. Эти данные в основном совпадают с результатами исследований Локкера [16] о развитии процесса окоченения. Поэтому учет обнаруженных изменений проводили по их преобладающему большинству, определившемуся в динамике их проявления. Сначала наблюдается расслабленное состояние мышечных волокон после агонального сокращения (профаза), затем — постепенно нарастающее до максимума запредельное со-

кращение, т. е. полное окоченение скелетных мышц (первая фаза), и, наконец, — последующее за ним постепенное набухание, разрыхление и распад миофибрилл, саркоплазмы, ядер и коллагеновых волокон на их составные элементы. Эти изменения приводят к полному размягчению мышц, т. е. окончанию созревания мяса (вторая фаза). Сарколемма при этом остается неповрежденной.

Изложенное согласуется с наблюдаемым распадом мышечных и коллагеновых волокон, а также миофибрилл на их составные сегменты-саркомеры под действием пищеварительных и некоторых других протеолитических ферментов, а также щелочей, кислот и кипячения. Сарколемма же и в этих случаях оказывается довольно устойчивой.

По результатам исследования можно сделать вывод: наиболее быстрый и наглядный метод определения степени зрелости мяса — гистологический.

Для практического определения степени созревания мяса по структурным изменениям мышечной ткани установлены следующие этапы в профазе и двух фазах его развития.

Профаза длится до 1,5—3 ч после убоя животного и характеризует мясо в горячепарном виде.

С прекращением жизни животного мышцы теряют свой прижизненный тонус и поэтому находятся в расслабленном состоянии. Такие мышцы обладают большой гидрофильностью, набухают, но все еще могут сокращаться в ответ на самые различные раздражения даже при отсутствии нервных импульсов.

В связи с этим принятое некоторыми исследователями [17] деление мышечных волокон на волокна активного и пассивного, пассивного сокращения на основании еще не выясненной теории посмертного сокращения мышечных волокон научно не обосновано и не согласуется с нашими наблюдениями.

В первом этапе профазы, непосредственно после убоя животного и в течение 1—1,5 ч, границы мышечных волокон различны по расположению их ядер, у которых хроматиновая структура не нарушена. Волокна прямые или слегка волнообразно изогнуты, набухшие, незначительно ворсинчатые, поперечная исчерченность их слабо различима (рис. 9, а). Наряду с расслабленными мышечными волокнами соединительнотканые волокна перимизия, фасции и сухожилия находятся в состоянии хорошо выраженного и равномерного волнообразного сокращения (рис. 9, б).

Оказалось, что первоначально и более интенсивно сокращаются соединительнотканые, а не мышечные волокна, поэтому они придают внешнюю пассивную волнообразную форму только рядом лежащим с ними мышечным волокнам, которые находятся еще в расслабленном состоянии (рис. 9, в). Первоначальное и более интенсивное посмертное сокращение соединительной ткани и динамических мышц, по-видимому, и является ключом

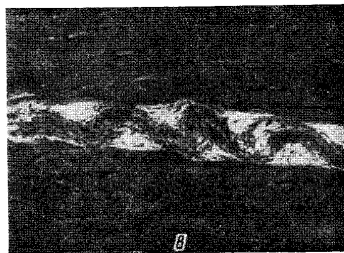
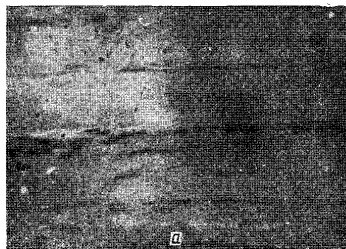


Рис. 9. Срезы мышечной ткани через 1—1,5 ч после убоя животного — 40; окуляр — 10

а — мышечные волокна в расслабленном состоянии; *б* — мышечные волокна в состоянии сокращения; *в* — соединительнотканые волокна перемизия lying мышечные волокна расслабленные, частично восприимчивые: объектив — 20; окуляр 7); *г* — мышечное волокно в состоянии

к разгадке строгой последовательности развития посмертного окоченения. Оно начинается сначала в жевательных мышцах, где больше всего сухожильных волокон и фасций, затем в мышцах шеи, грудных мышцах, мышцах грудных конечностей, живота и туловища и, наконец, в мышцах тазовых конечностей.

вотного. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив (Адушкевич):

волокна в расслабленном, а соединительнотканые а волнообразном в резко выраженном волнообразном состоянии сокращения, а рядом с ними их конфигурацию сокращения. (Окраска по Ван-Гизон. Увеличение: объектив — 20; окуляр 7); *г* — мышечное волокно в состоянии

Такая последовательность окоченения, как видно, связана не только с развитием соединительной и мускульной ткани, но и с прижизненным их качеством и количеством.

Коллагеновые и эластические волокна подвержены более быстрому и в несколько раз превосходящему по силе (судя по

высоте гребней, волнообразного сокращения) посмертному сокращению, чем мускульная ткань.

Непосредственно после убоя животного сокращаются и мышечные волокна, но только на небольшом участке, в местах их поперечного сечения ножом. Такое сокращение характеризуется резко выраженным клиновидным утолщением, основанием которого является узел сокращенного волокна. Чем ближе к ножовому сечению, тем толще волокно и больше выражены в нем поперечная исчерченность, изгиб волокна и полосы сокраще-

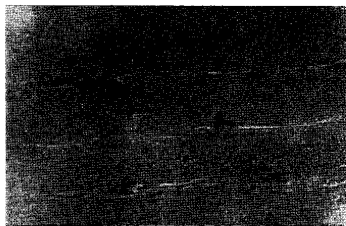


Рис. 10. Срез мышечной ткани через 1,5—3 ч после убоя. Мышечные волокна в состоянии сокращения в пределах нормы. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 40; окуляр — 10 (Адукевич).

ния (9, г). Степень этих изменений характеризует реактивность организма до убоя животного.

Во втором этапе профазы, в течение от 1,5 до 3 ч после убоя, гидрофильность и набухание мышечных волокон постепенно уменьшаются, границы волокон и их поперечная исчерченность становятся хорошо различимыми (рис. 10). С прекращением обмена веществ последующее расслабление мышц не может наступить за отсутствием ресинтеза, в результате чего продолжающееся сокращение волокон становится запредельным, не свойственным прижизненной конфигурации состояния сокращения волокон.

Первая фаза длится от 1,5—3 до 24—48 ч после убоя и характеризует мясо в состоянии постепенно нарастающей дегидратации, а также запредельного сокращения мышц до максимума, называемого посмертным очоением. Этот процесс приводит к увеличению жесткости мяса. В течение этого процесса проис-

ходит резкое уплотнение и уменьшение объема волокон. Доказательством этого служит образование равномерных и значительных промежутков между мышечными волокнами в расположении эндомизии на всем их протяжении (рис. 11).

В первом этапе первой фазы от 1,5—3 ч до 4—6 ч после убоя в мышечных волокнах образуются поперечные полосы сокращения, намекающие дальнейшее разделение волокна на сегменты-саркомеры длиной, равной диаметру этого же волокна или несколько превышающей его (рис. 12, а, б). Это указывает на нача-

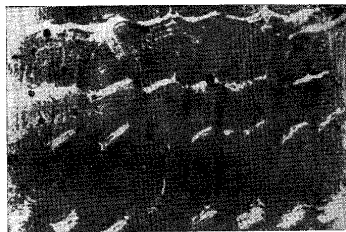


Рис. 11. Срез мышечной ткани через 12—24 ч после убоя. Мышечные волокна в состоянии посмертного запредельного максимального сокращения. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20; окуляр — 7 (Адукевич).

до посмертного запредельного сокращения мышечных волокон. Затем в расположении полосок сокращения у различных волокон возникают различного вида изгибы (рис. 12, в).

Продолжающееся и усиливающееся запредельное сокращение придает отдельным волокнам или группе волокон в той или иной степени волнообразный или зигзагообразный, S-образный или узловатый вид (рис. 12, г, д, е, ж).

В течение первого этапа первой фазы у соединительнотканых волокон продолжается равномерное и интенсивное сокращение волнообразной конфигурации, достигая своего максимума.

Во втором этапе первой фазы от 4—6 ч до 12 ч после убоя степень сокращения мышечных волокон возрастает наиболее интенсивно, на что указывает резкое усиление первоначально принятой ими конфигурации состояния сокращения (рис. 13).

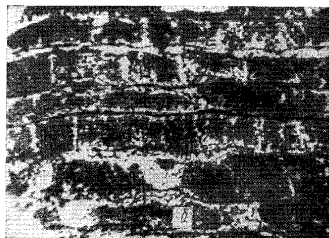
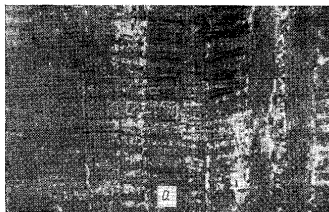
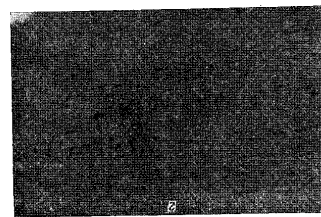
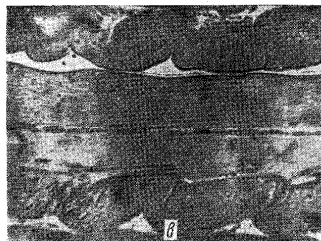


Рис. 12. Срез мышечной ткани через
 а — мышечные волокна в начале посмертного (запредельного)
 локтя на равные части. (Окраска по Ван-Гизон. Увеличение:
 прегниции серебром. (Увеличение: объектив — 40, окуляр — 10);
 положении поперечных полосок. (Окраска гематоксилин-эозином.
 принимают волнообразную конфигурацию. (Окраска гематоксилин-
 эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7);



3—6 ч после убоя (Адуцкевич):

сокращения с образованием поперечных полосок, разделяющих во-
 объектив — 40, окуляр — 10); б — аналогичные волокна при на-
 в — мышечные волокна в стадии образования в них члеников в рас-
 Увеличение: объектив — 40, окуляр — 10); е — мышечные волокна
 эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7);

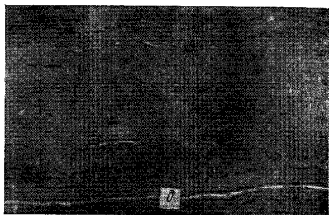


Рис. 12, *д* — мышечные волокна принимают зигзагообразную конфигурацию. (Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7);

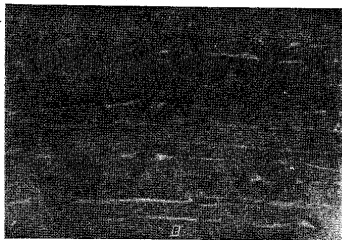


Рис. 12, *е* — мышечные волокна принимают S-образную конфигурацию. (Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7);

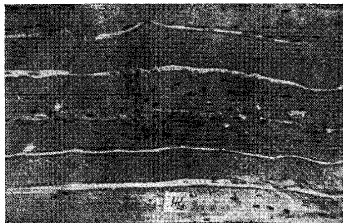


Рис. 12, *ж* — мышечные волокна принимают узловатую конфигурацию. (Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7);

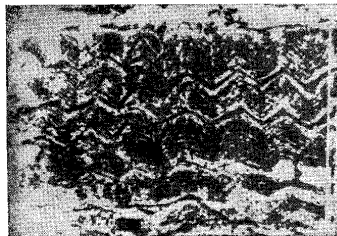


Рис. 13. Срез мышечной ткани через 6—12 ч после убоя. Мышечные волокна в состоянии резко выраженного посмертного сокращения, распада волокон на сегменты не наблюдается. Окраска — импрегнация серебром. Увеличение: объектив — 40, окуляр — 10 (Адуцкевич).

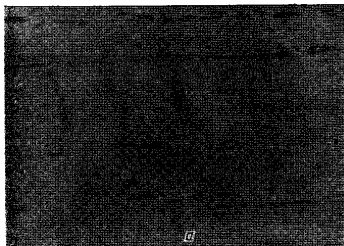


Рис. 14. Срезы мышечной ткани через 12—24 ч после убоя жи-
вотного:

a — появление темных полосок предстоящего распада волокна на
сегменты; *б* — темные полоски и начало распада волокон на сарко-
меры. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение: объектив — 40.
окуляр — 10 (Адуцкенич).

В третьем этапе первой фазы, от 12 ч до 24—48 ч после убоя, помимо еще продолжающегося нарастания усиления степени сокращения, на изгибах отдельных мышечных волокон полоски сокращения утрачивают исчерченность, и в этих местах происходит полное разобщение миофибрилл и саркоплазмы с образованием поперечных щелей, разделяющих волокно на сегменты-саркомеры (рис. 14, *a*, *б*).

Вторая фаза наступает через 1—2 суток после убоя. Процессы развития окоченения в основном прекращаются, а процессы гидратации — набухания, разрыхления и распада мышечных волокон на их составные элементы — прогрессивно усиливаются. Эти процессы приводят к постепенному размягчению и увеличению нежности мяса. Мясо приобретает максимальную нежность через 6 суток хранения туши при 8—10° С или 10—12 суток хранения при 2—4° С.

Дальнейшее удлинение сроков хранения туш не вызывает существенного улучшения качества мяса.

В первом этапе второй фазы, от 24 до 48 ч после убоя, мышечные волокна в преобладающем большинстве находятся в резко выраженном состоянии сокращения. Поперечная исчерченность, ядра и промежутки между волокнами хорошо выражены. На изгибах принятой сокращенными волокнами конфигурации начинается распад у отдельных групп волокон на их сегменты.

Соединительнотканые волокна (перемизии) находятся в состоянии волнообразного сокращения (рис. 15, *a*).

Во втором этапе второй фазы (от 2 до 4 дней после убоя) мышечные волокна набухают, разрыхляются. В преобладающей части волокон начинается их распад на саркомеры с сохранением поперечной исчерченности, ядра и сарколеммы. В связи с этим волокна постепенно утрачивают конфигурацию состояния сокращения.

Соединительнотканые волокна (перемизии) продолжают находиться в состоянии волнообразного сокращения, но они набухают и разрыхляются, а у отдельных волокон наблюдается распад на сегменты (рис. 15, *б*).

В третьем этапе второй фазы, от 4 до 6 дней после убоя при хранении туш при 8—10° С или от 10 до 12 дней при 2—4° С, мышечные волокна на отдельных участках сохраняют еще свою прежнюю конфигурацию состояния сокращения, но она уже слабо выражена вследствие множественного распада мышечных волокон на их саркомеры. Поперечная и продольная исчерченность саркомеров волокон различимы, ядра бледной окраски, тeneвидны. Наряду с этим наблюдается разволокнение и распад миофибрилл отдельных саркомеров волокон на элементарные саркомеры-инокоммы длиной 2—4 мк с потерей исчерченности и растворением ядер. Это мы наблюдаем на отдельных участках



Рис. 15. Срезы мышечной ткани (Адуцкевич):

а — через 1—2 суток хранения туши. Мышечные волокна в начальной стадии распада на саркомы. В соединительных волокнах перемизин распадается волокон на сегменты еще не отмечается. (Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7); б — через 2—4 суток хранения туши при температуре 8—10° С. Распад мышечных и соединительных волокон на сегменты. (Окраска по Ван-Гизон. Увеличение: объектив — 20; окуляр — 7).

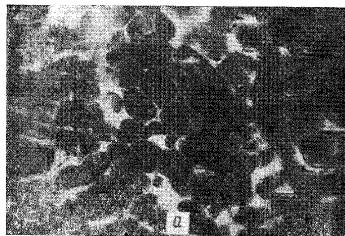


Рис. 16. Срез мышечной ткани через 4—6 суток хранения мяса при температуре 8—10° С (Адуцкевич):

а — множественный распад мышечных волокон на их первоначальные сегменты-саркомы. (Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7); б — разволокнение и распад первичных саркомов мышечных волокон на их элементарные саркомы-инкоммы длиной 2—4 мк с растворением ядер. (Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 40; окуляр — 10);

ПОСЛЕУБОЙНОЕ ОКОЧЕНЕНИЕ МЫШЦ



Рис. 16, в — распад миофибрилл, саркоплазмы и ядер первичных саркомеров в виде зернистой массы с сохранением сарколеммы. Импрегация серебром. (Увеличение: объектив — 40, окуляр — 10).

волокон в виде зернистой белковой массы, заключенной в сарколемму. Соединительнотканые волокна (перемизии) также сильно набухшие, они разрыхлены и распались на саркомеры (рис. 16, а, б и в).

Таким образом, в процессе созревания мяса в мышечных волокнах никаких разрывов и хаоса, как некоторые полагают, не возникает, а происходит их закономерный распад на составные элементы с растворением ядер и сохранением сарколеммы.

Из разнообразных изменений, которые имеют место после прекращения жизни животного, одним из наиболее резко выраженных является окоченение. Оно находится в исключительной зависимости от состояния белков мышечной ткани.

Изменения, происходящие при наступлении окоченения, отражены в ряде обзоров [35, 37, 48, 77]. Интерес к изучению этого явления обусловлен зависимостью качественных показателей парного, остывшего и частично даже охлажденного мяса от окоченения. Химизм этого процесса был выяснен сравнительно недавно. В течение многих лет считали, что окоченение обусловлено коагуляцией мышечной плазмы, происходящей самопроизвольно или благодаря осаждению мышечных белков образующейся молочной кислотой. Доказательством того, что молочная кислота не является необходимой для развития этого процесса служит так называемое «щелочное окоченение», при котором молочная кислота отсутствует, а окоченение наступает и носит такой же характер, как и в нормальных условиях.

ФИЗИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Эти изменения в основном сводятся к увеличению жесткости мяса. Немедленно после убоя животного мускулы находятся в расслабленном состоянии, они гибкие и мягкие. Однако через короткий промежуток времени мускулы сокращаются, теряют растяжимость и становятся жесткими. Течение процесса окоченения может быть количественно охарактеризовано в единицах степени растяжения мускула приложенным грузом путем вычисления модуля эластичности мускула [33, 34, 36, 63].

Авторами было найдено, что жесткость, которая рассматривается как величина, обратно пропорциональная растяжимости, увеличивается в 10—40 раз в результате развития процесса послеубойного окоченения.

Результаты представлены на рис. 17 и 18. Как видно из рис. 17, в каждой из записей растяжимости мускула в зависимости от продолжительности времени после убоя различаются три главные фазы окоченения:

Первая фаза — период задержки, происходит в самом начале процесса, когда растяжимость мускула остается высокой

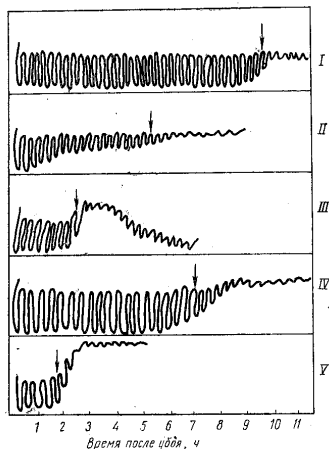


Рис. 17. Изменения растяжимости мускулов кролика в процессе окоченения (Бейт-Смит):

I — кривая для животного, обработанного миазенином (начальный pH 7, конечный 6, температура 17°С); *II* — кривая для животного, не обработанного миазенином и оказывавшего сопротивление перед убоем (начальный pH 6,5, конечный 6,0, температура 17°С); *III* — кривая для того же животного с теми же показателями, но температура 37°С; *IV* — кривая для животных, голодавших в течение 48–72 ч и за 30 мин перед убоем параллелизованных миазенином (начальный pH 7,00, конечный 6,5, температура 17°С); *V* — кривая для животных, обработанных инсулином (начальный pH 7,2, конечный 7,2, температура 17°С). Стрелки указывают конец периода задержки.

и постоянной и, следовательно, по физическим признакам окоченения еще не проявляется.

Вторая фаза — называемая быстрой, занимает промежу-

ток времени, в течение которого растяжимость мускула быстро уменьшается.

Третья фаза — характеризует состояние полного окоченения мускула: растяжимость, уменьшившаяся в течение быстрой фазы в 10–40 раз по сравнению с исходной величиной, остается неизменной в течение длительного периода времени.

В процессе окоченения иногда (но не во всех случаях) имеет место укорочение мускула во время быстрой фазы. Это укорочение для мускулов кролика редко превышает 1/2.000 максимальной длины волокон [37]. В случаях, представленных на кривых *I*

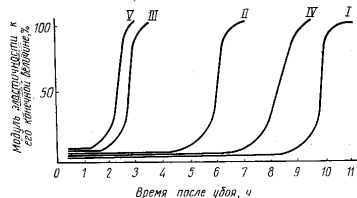


Рис. 18. Изменения модуля эластичности в процессе окоченения мускулов кролика (Бейт-Смит и Бендолл).

и *II* (рис. 18), укорочения мускулов не наблюдалось. Однако если окоченение происходило при 37°С (кривая *III*), мускулы укорачивались более чем на 10%. На кривой *IV* (голодавшие животные) укорочение составило 5,4%.

Из кривых рис. 17 и 18 видно, что ход процесса окоченения (продолжительность периода задержки и быстрой фазы) различен для пяти типов окоченения. Продолжительность периода задержки составила от 1,25 ч (*V* кривая) до 9 ч (*I* кривая), а продолжительность быстрой фазы — от 0,5 ч (*III* кривая) до 2,0 ч (*IV* кривая).

Сравнивая кривые *II* и *III*, видно, что повышение температуры, при которой происходит окоченение, от 17 до 37°С приводит к уменьшению периода задержки с 5 до 2 ч и продолжительности быстрой фазы с 1 ч до 0,5 ч. Предубойное голодание кроликов в течение 48–72 ч приводит к уменьшению периода задержки с 9 до 6 ч и появлению промежуточной стадии продолжительностью 1,5 ч. В этой стадии модуль эластичности очень медленно изменяется. Кроме того, при этом увеличивается продолжительность быстрой фазы от 1 до 2 ч.

Примером щелочного окоченения являются мускулы животных, полностью истощенных вызванными инсулином конвульсиями. Эти мускулы имеют конечную величину pH в интервале 6,9—7,2 (кривая V).

В этом особом случае период задержки уменьшается до 1¼ ч и после него немедленно начинается быстрая фаза, продолжающаяся около 1 ч. Щелочное окоченение характеризуется также резко выраженным укорочением мускулов до 16% при 17°С и до 32—45% при 37°С. Продолжительность обоих фаз щелочного окоченения при повышении температуры до 37°С значительно уменьшается. На основании указанных выше опытов авторами [36] было установлено: продолжительность периода задержки является комплексной функцией начальной и конечной величины pH; она тем больше, чем выше начальная величина pH и чем ниже конечная (т. е. чем более продолжительным является гликолитический цикл).

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Немедленно после убоя животного в мясе начинают преобладать процессы распада, которые по своей природе являются автолитическими. Стадия послеубойного хранения мяса, характеризующаяся развитием окоченения, сопровождается многими биохимическими процессами:

- 1) распадом гликогена с образованием молочной кислоты и смещением pH в кислую сторону от нейтральной точки;
- 2) распадом гликогена с образованием редуцирующих углеводов (амилолиз);
- 3) распадом креатинфосфорной кислоты;
- 4) увеличением содержания ионов Са в экстракте;
- 5) распадом аденозинтрифосфорной кислоты;
- 6) ассоциацией актина и миозина в актомиозиновый комплекс;
- 7) освобождением солевого аммиака.

Некоторые из этих процессов являются прямой причиной наступления послеубойного окоченения, другие — оказывают на него косвенное влияние, а третьи следует рассматривать как сопутствующие (например, освобождение аммиака при деаминации адениловой кислоты или амилолиз гликогена).

ГЛИКОЛИТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПОСЛЕ ПРЕКРАЩЕНИЯ ЖИЗНИ ЖИВОТНОГО

Гликолитические процессы, приводящие к образованию и накоплению в мясе молочной кислоты, подробно изучались Смородиным и сотрудниками [21, 23], а также другими исследователями [6, 13, 34, 35, 36, 37, 38, 41, 46, 48, 54, 63] на мясе крупного и мелкого рогатого скота, свиней, лошадей, кроликов и птиц.

В табл. 8 представлены средние данные Смородина [21, 23] об изменении основных показателей, характеризующих углеводную систему мяса крупного рогатого скота в течение 48 ч после убоя (при 4°С), когда имеют место процессы, связанные с развитием послеубойного окоченения.

Таблица 8

Продолжительность хранения после убоя, ч	pH	Гликоген, мг%	Молочная кислота, мг%	Неорганический фосфор, мг%
1	6,21	633,7	319,2	70,5
3	6,00	—	314,7	—
6	6,04	—	465,5	—
9	5,75	—	512,8	—
12	5,94	462,0	609,2	77,7
24	5,56	274,9	700,6	75,3
48	5,68	189,1	692,6	75,4

Как видно из приведенных данных, процессы распада гликогена, накопления молочной кислоты и снижения величины pH в основном заканчиваются в мясе через 24 ч его хранения при 4°С. Изменения неорганического фосфора плохо коррелируют с снижением величины pH.

Падение pH является достаточно надежным показателем течения процесса гликолиза, так как оно более легко и точно измеряется (ошибка $\pm 0,03$ единицы pH), чем содержание гликогена или молочной кислоты [36, 38, 54, 63] (рис. 19).

Как видно из рисунка, в пределах pH от 7,20 до 5,80 падение этой величины почти линейно соответствует образованию молочной кислоты. Следовательно, зная насколько снизилась величина pH при послеубойном гликолизе, можно вычислить количество образовавшейся при этом молочной кислоты.

Содержание молочной кислоты и величина pH являются важными показателями характеристики качества мяса. От них в определенной степени зависит стойкость мяса при хранении и ряд физико-химических показателей, обуславливающих технологические и потребительские свойства мяса (влажность, влагоудержание при тепловой обработке, количество сока, выделяющегося при дефростации, и т. д.). Кроме того, по мере снижения величины pH создаются более благоприятные условия для действия мышечных катепсинов, о значении которых в процессе созревания мяса будет сказано ниже. Поэтому изучению факторов, оказывающих влияние на величину pH мяса, уделялось много внимания.

Имеют распространение следующие понятия, принятые для характеристики величины pH в зависимости от состояния мяса:

а) начальная, обозначающая уровень этого показателя в момент убоя животного, и

б) конечная — ее значение после завершения в мясе всех гликолитических процессов после прекращения жизни животного.

Как установили Бейт-Смит и Бендолл [36], наиболее важным фактором, обуславливающим начальную величину рН мускула, является активность движений животного непосредственно перед

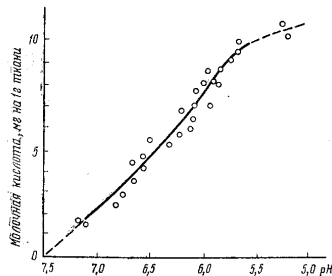


Рис. 19. Взаимозависимость между содержанием молочной кислоты и рН мускулов в процессе послеубойного гликолиза (Бейт-Смит и Бендолл).

убоем или в момент убоя. С другой стороны, на конечную величину рН этот фактор не оказывает существенного влияния и величина его обуславливается главным образом условиями кормления и степенью утомления животного перед убоем (т. е. наличием у животного резервов гликогена).

Если изучать процесс гликолиза в мясе накормленных и отдохнувших животных, то при любом данном значении рН в пределах интервала 7,0—5,8 скорость послеубойного изменения этого показателя во времени постоянна у различных животных данного вида [36, 63]. Однако с повышением температуры она увеличивается (рис. 20, 21).

При физиологических температурах (37°С) скорость анаэробного гликолиза также приблизительно одинакова в мускулах крупного и мелкого рогатого скота, лошадей и кроликов [63].

Для большинства хорошо накормленных животных, дающих конечную величину рН мяса в пределах 5,8—6,1, при наступлении

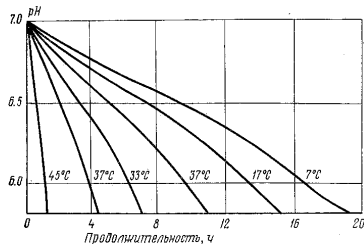


Рис. 20. Влияние температуры на скорость снижения величины рН в процессе окончания мышц крупного рогатого скота (Марш) [63].

окончания рН будет около 6,3 [36]. Протекающий после прекращения жизни животного процесс распада гликогена никогда не доходит до конца и вне зависимости от конечной величины рН и продолжительности послеубойного хранения в мясе всегда содержится некоторое количество остаточного гликогена, а рН мяса при достижении величины 5,3—5,4 далее не снижается. Так, по данным Смородинцева [21, 23], остаточное содержание гликогена в мясе крупного рогатого скота составляет около 120—150 мг%.

Лоури и сотрудники [56] указывают, что в некоторых мускулах этого же вида животных оно может достигать 500 мг%. Обычно это явление относят за счет подавления процесса фосфорилиза образовавшейся в качестве продукта реакции молочной кислоты.

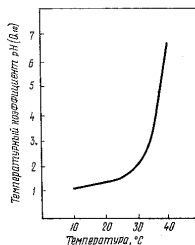


Рис. 21. Температурный коэффициент (Q_{10}) послеубойных изменений рН говяжьего мускула (Марш).

Вместе с этим Лоури и сотрудники [56] показали, что гликогены, выделенные из мышц после наступления оковенения, имеют более низкий молекулярный вес и более короткие внешние цепи (число остатков глюкозы, удаляемых β -амилазой при $2,5^\circ\text{C}$), чем гликогены, выделенные из этих же мышц до наступления оковенения. Внешние цепи гликогена в большинстве мускулов крупного рогатого скота и лошадей до оковенения имеют в своем составе 11—12 остатков глюкозы, а после оковенения — 10. Наиболее существенная разница была получена для мускула *Sternocapillaris* быка, в котором эти величины соответственно составляют

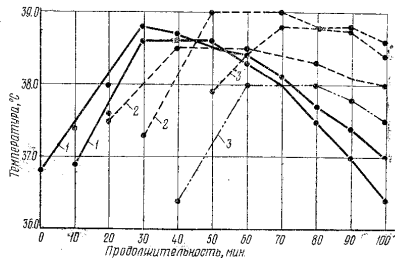


Рис. 22. Повышение температуры мышц животных после убоя (Головкин):

1 — средней упитанности; 2 — выше средней; 3 — жирных.

12 и 9 остатков глюкозы. Весьма возможно, что приостановление процесса гликолиза связано также с указанным изменением структуры гликогена. Из приведенных выше экспериментальных данных о течении процесса гликолиза и скорости снижения pH мяса Марш [63] сделал такой вывод: зная скорость охлаждения длиннейшего мускула спины говяжьей полутуши в достаточно эффективной камере охлаждения, можно установить развитие процесса оковенения в практических условиях. Например, если мы примем, что pH через 2 ч после убоя равняется 7,1 и конечная величина этого показателя составляет 5,3, то все гликолитические изменения должны заканчиваться в течение 30 ч в поверхностном слое (3 мм) и в течение 26 ч в глубинных слоях (75 мм). Допуская возможность более эффективного охлаждения, можно считать, что в течение 36 ч после прекращения жизни животного

все гликолитические изменения в мясе должны полностью заканчиваться. Моран и Смит [67] впервые отметили факт послеубойного повышения температуры мясной туши в пределах 2°C . Впоследствии этот факт был подтвержден рядом авторов. Течение этого процесса во времени было изучено Головкиным [1] и представлено графически на рис. 22.

На графике все температурные кривые носят однотипный характер: в первом периоде, который продолжается в течение 20—30 мин, происходит быстрое повышение температуры, во втором — имеется изотермическая площадка, а в третьем — постепенное понижение температуры. Автором подсчитано, что в процессе охлаждения общее количество выделяющегося мясом тепла составляет 0,18—0,36 ккал на 1 кг мышечной ткани в час, не считая периода нахождения туши в убойном цехе. Таким образом, при расчетах приборов охлаждения необходимо учитывать дополнительные расходы на отнятие тепла (около 10% от расхода холода, требуемого для снижения температуры туши).

Выполненные автором расчеты показали, что количество тепла, которое может выделиться при распаде АТФ, креатинфосфата и при образовании молочной кислоты, значительно меньше фактически выделяющегося мясом тепла после убоя животного и обуславливающего повышение температуры мясной туши. Кроме того, распад гликогена на всем протяжении процесса охлаждения дает не эквивалентные, а несколько меньшие количества молочной кислоты и редуцирующих сахаров. В связи с этими фактами автором была выдвинута следующая гипотеза. В первые часы после прекращения жизни, вследствие наличия кислорода, связанного миоглобином, происходит аэробный гликолитический процесс, который и является главным источником выделения мясом тепла и послеубойного повышения температуры.

Были также выполнены опыты [24, 25] по определению изменений общего и трудноизвлекаемого гликогена, молочной кислоты, pH и легкогидролизуемого фосфора в процессе хранения мяса при $0-4^\circ\text{C}$. В этих опытах общее количество гликогена интенсивно уменьшалось в течение первых суток. В дальнейшем продолжался постепенно замедляющийся распад гликогена и мясо даже после 6 суток хранения при $0-4^\circ\text{C}$ всегда содержало некоторые остаточные количества его. Эти сведения не отличаются принципиально от ранее описанных в литературе, но данные о превращениях трудноизвлекаемого гликогена являются новыми. Аналитические данные о содержании трудноизвлекаемого гликогена в мясе через различные промежутки времени после убоя при температуре $0-4^\circ\text{C}$ приведены в табл. 9.

Обращает на себя внимание чрезвычайно высокое содержание трудноизвлекаемого гликогена по отношению к общему в подвергавшемся исследованию парном мясе крупного рогатого

Таблица 9

Продолжительность хранения, ч	Содержание трудноизвлекаемого гликогена		
	в мг%	в % к общему количеству гликогена	в % к исходному содержанию
Парное	464,3	90,9	100,0
6	296,4	84,9	63,4
72	159,5	70,1	34,4

скота. Эта величина в различных сериях опытов достигает 90—95%.

Как видно из табл. 9, после убоя животного в мясе наряду с распадом свободного гликогена происходит также постепенное уменьшение количества трудноизвлекаемого гликогена. При этом уменьшается не только его абсолютное количество, но и его процентное содержание в общем гликогене мяса. Так, если содержание трудноизвлекаемого гликогена по отношению к его общему количеству для парного мяса составляет в среднем около 91%, то через трое суток хранения эта величина снижается до 70%. По-видимому, одной из причин замедления процесса гликолитического распада гликогена после завершения развития в мясе окоченения является переход определенного количества из трудноизвлекаемого в свободное состояние. В настоящее время еще не решен вопрос о природе трудноизвлекаемого гликогена. Поэтому трудно установить, являются ли легкоизвлекаемые и трудноизвлекаемые гликогены фракциями, отличающимися друг от друга по растворимости, независимо от белковых веществ мяса, или гликогенами, вступающими в различные соединения с белками.

Во всех выполненных нами опытах [24, 25] было отмечено снижение содержания молочной кислоты на вторые — шестые сутки хранения, достигающее в среднем к шестым суткам 15% от максимального значения этого показателя через 1 сутки после убоя при температуре 0—4°C (табл. 10).

Таблица 10

Продолжительность хранения, сутки	Уменьшение содержания молочной кислоты в %, к ее количеству через 1 сутки после убоя в опытах			
	1	2	3	среднее
2	4,0	5,1	13,6	7,6
3	14,9	5,0	23,6	13,9
6	7,4	17,7	18,3	15,3

Интересно отметить, что аналогичное явление наблюдалось и в опытах Смородинцева [21, 23], хотя автор и не придавал ему значения.

Снижение содержания молочной кислоты в указанные сроки сопровождается некоторым повышением величины pH (рис. 23).

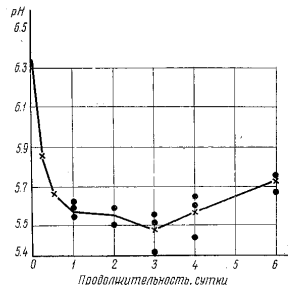


Рис. 23. Изменения величины pH в процессе хранения мяса при 0—4°C (Соловьев и со-трудники).

Причиной этого может явиться аэробное расщепление гликогена в поверхностных слоях мышечной ткани, на возможность которого указывает Головкин [1].

АМИЛОЛИТИЧЕСКИЙ ПУТЬ РАСПАДА ГЛИКОГЕНА

Кроме распада путем фосфорилирования, был установлен имеющий некоторое практическое значение амилаолитический распад гликогена в мускулах. В нем принимают участие путем комбинированного воздействия α -амилаза, амило-1:6-глюкозидаза и мальтаза. В результате их воздействия образуется свободная глюкоза [18, 19]. Амилаолитическому пути разложения подвергается приблизительно $1/10$ часть общего количества гликогена, если этот процесс протекает в целом, неповрежденном мускуле. Амилаолитические изменения гликогена после прекращения жизни животных в мускулах крупного рогатого скота подробно исследовались Журавской [7]. Автором было установ-

лено, что в начальных стадиях автолиза мышц крупного рогатого скота при 4° С параллельно с распадом значительной части мышечного гликогена и накоплением молочной кислоты наблюдается образование мальтозы, глюкозы и несбраживаемых редуцирующих полисахаридов. При этом накопление редуцирующих углеводов продолжается на всем протяжении наблюдаемого процесса до 6 суток.

В первые часы автолитические изменения углеводов мышцы лишь ограниченно связаны с амилолитическим распадом гликогена и преимущественно обусловлены интенсивно протекающими реакциями анаэробного гликолиза.

Однако после 24 ч хранения дальнейший распад гликогена обусловлен только амилолитическим процессом. Следовательно, этот путь распада гликогена характерен для более поздних этапов автолиза, следующих за послеубойным окоченением мышц.

Исследованиями Дуды [9] установлено, что в измельченной свинине, к которой добавлено 3% NaCl, гликолитические изменения гликогена несколько заторможены, а его амилолиз протекает значительно более интенсивно. Поэтому возможно, что добавление к мышечной ткани NaCl сопровождается уменьшением АТФазной активности миозина.

При этом необходимо учитывать, что для торможения гликолитических и усиления амилолитических процессов в опытах Дуды, очевидно, большее значение имело добавление поваренной соли, чем измельчение мышечной ткани. Павловских [14] были поставлены опыты по изучению влияния измельчения мышечной ткани на послеубойные автолитические процессы в мускулах крупного рогатого скота при 4° С. Им выяснено, что на первых стадиях автолитических изменений интенсивность распада гликогена, накопления молочной кислоты и смещения pH в кислую сторону в измельченных мышцах возрастает примерно в 2—3 раза.

Накопление молочной кислоты в измельченной мышце достигает максимума к 8—10 ч против 24—48 ч для цельной мышцы.

В охлажденном мясе после измельчения при последующем хранении при низких положительных температурах протекают аналогичные процессы.

Однако при хранении мороженных цельных и измельченных мускулов процессы амилолиза, сопровождающиеся накоплением редуцирующих сахаров, происходят более интенсивно, чем при положительных температурах.

Эти данные свидетельствуют о возможности практического значения амилолиза гликогена в технологии мясной промышленности при переработке парного мяса или мяса после однофазной заморозки на колбасные изделия.

УВЕЛИЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЭКСТРАКТЕ И ИНАКТИВИРОВАНИЕ ФАКТОРА МАРША — БЕНДОЛЛА

Сморodinцевым и сотрудниками [20] было показано, что в течение первых суток после убоя животного увеличивается содержание водорастворимого кальция мяса в среднем от 1,79 мг % через 1 ч после убоя до 3,19 мг % через 24 ч после убоя. Марш [61] и Бендолл [39, 40] показали действие фактора, задерживающего в присутствии АТФ наступление послеубойного окоченения и ингибирующего АТФазное действие миозина. Этот фактор имеет белковую природу, инактивируется нагреванием при 85° С в течение 1,5 мин и при действии кислот. Он относится к миогеновой или миоальбуминовой фракциям белков мышечной ткани, активируется солями магния и его действие подавляется ионами кальция. Еще в 1946 г. Энгельгардт [28] указывал на возможное существование в живом мускуле регулирующего фактора (компонента), необходимого для предупреждения доступа АТФ к сократительным элементам при покое и отдыхе.

Дальнейшие исследования показали [68], что система ослабляющего фактора Марша — Бендолла состоит из зернистого компонента и лабильного при нагревании, диализуемого кофактора. Как было показано выше (гл. I), большая часть связанного с белками кальция в живых мускулах содержится в активе. При этом установлено [51], что содержание Са в нерастворимых структурных белках мышечной ткани, находящейся в состоянии окоченения, равно только половине величины этого показателя для данной ткани немедленно после убоя и в среднем составляет 5 мкмоль на 1 г белка.

Содержание в них магния при этом не изменяется. Фуджимаки и сотрудники [47] подтвердили эти данные. Содержание Са в активе, выделенном из мускулов кролика, уменьшается в течение 24 ч после убоя с 2,83 до 1,17 мкмоль на 57000 г белка. При этом уменьшение суммарного содержания щелочноземельных металлов в активе полностью объясняется уменьшением в нем количества кальция. В результате этого доля кальция в общем количестве связанных с активом щелочноземельных металлов резко снижается в процессе послеубойного окоченения.

Таким образом, было доказано, что появление кальция в экстрактах из мышц, находящихся в состоянии окоченения, вызвано нарушением его связи с актином. Поскольку при этом магний остается в связанной с актином форме, возникает сомнение, является ли причиной освобождения кальция разложение протеогенов молочной кислотой.

Гамм [48] дал такое объяснение роли фактора Марша — Бендолла и ионов кальция в процессах послеубойного окоченения. Продолжительность фазы задержки наступления окоченения

обусловлена присутствием фактора Марша — Бендолла, который ингибирует миозиную АТФазу и, следовательно, распад АТФ. Фактор Марша — Бендолла инактивируется освобождаемыми в начале быстрой фазы ионами кальция и после этого содержание АТФ в мускулах быстро снижается миозиновой АТФазой. Правильность этого вывода подтверждается также тем, что предубойные инъекции солей кальция крупному рогатому скоту значительно ускоряют наступление окоченения, а удаление кальция путем инъекций этилендиметиламинтетрауксусной кислоты замедляет окоченение [52]. Приводящее к инaktivации фактора Марша — Бендолла освобождение кальция из актина коррелируется с изменениями состояния мембран волокон, поскольку последние признаки возбуждения электрическим током исчезают в начале быстрой фазы увеличения жесткости и распада АТФ.

РАСПАД АТФ И КРЕАТИНФОСФАТА

Изучались изменения креатинфосфорной кислоты после убоя животного [37, 38, 63]. Ход распада креатинфосфата после прекращения жизни животного можно наблюдать по кривой, представленной на рис. 24.

Полученные данные свидетельствуют о снижении количества фосфора креатинфосфорной кислоты приблизительно через 7 ч после убоя до 12% от первоначального уровня. Следовательно, большая часть креатинфосфата распадается еще до того момента, когда наблюдаются первые физические обнаруживаемые признаки окоченения. К этому моменту содержание креатинфосфата в мышцах не превышает 5% общего кислоторастворимого фосфора. Отсюда вывод: креатинфосфорная кислота, принимая участие в гликолитическом цикле, действует только как средство происходящего при этом ресинтеза АТФ и не может играть какой-либо другой роли в изменениях, связанных с послеубойным окоченением мышц.

Энгельгардтом и Любимовой [11, 29] были открыты ферментативные свойства миозина, вызывающего расщепление АТФ. По данным одного из авторов [12], имеет место следующий механизм этого процесса: при ферментативном распаде АТФ соединяется с миозином, в результате чего отщепляется третья частица фосфорной кислоты, а АДФ отделяется от миозина. Свободный миозин соединяется с новой молекулой АТФ или с актином.

Кроме того, указанные авторы установили, что АТФ в свою очередь влияет на механические свойства нитей миозина, значительно увеличивая их растяжимость. В этом отношении АТФ превышает по силе действия другие органические эфиры, содержащие пирофосфатные связи. Эти работы позволили по-новому

подойти к рассмотрению вопросов о причинах послеубойного окоченения.

Эрдош [45] показал, что процессы распада АТФ и увеличения степени жесткости мускулов кролика при развитии послеубойного окоченения протекают параллельно.

Принимая во внимание значение АТФ в процессах гликолиза при сокращении мускулов и в изменении механических

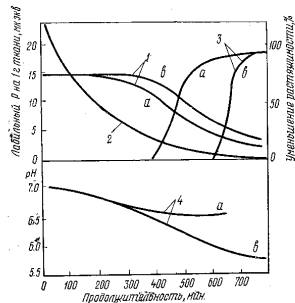


Рис. 24. Физические и химические изменения в процессе послеубойного окоченения при 17°С большой поясничной мышцы кроликов, забитых под наркотозом (Бейт-Смит и Бендолл):

1 — АТФ; 2 — креатин-фосфат; 3 — растяжимость; 4 — pH; а — кривые для группы животных, голодавших 48 ч перед убоем; б — кривые для группы хорошо откормленных животных.

свойств миозиновых нитей, Эрдош [45] и Сент-Дьердьи [74] пришли к выводу о зависимости окоченения мускулов от недостатка АТФ. Аналогичные результаты другие авторы получили для мускулов различных видов животных: кроликов, крупного рогатого скота, лошадей, а также рыб [2, 16, 17, 24, 34, 36, 46, 54, 63].

Известно, что АТФ непрерывно синтезируется в процессе гликолиза в количестве 1,5 моля на каждый моль образующейся молочной кислоты [57]. Однако этот синтез в той или другой степени уравнивается расщеплением АТФ миозином [11, 29]. Поэтому пока имеются неизрасходованные резервы гликогена,

не может произойти полного распада АТФ, и мускул не переходит в состояние окоченения.

Ниже показана взаимосвязь между растяжимостью мускула и содержанием АТФ по данным Марша [63]. Наступление окоченения здесь выражается в единицах уменьшения растяжимости мускула ($1/L$) в % от максимального.

Уменьшение растяжимости.									
%	0	1-10	11-30	31-50	51-70	71-90	91-100		
Фосфор АТФ к общему килостаторвирному фосфору (среднее \pm стандартное отклонение), %	20 \pm 2	19 \pm 3	16 \pm 3	11 \pm 4	9 \pm 3	7 \pm 3	4 \pm 2		

На рис. 25 показано, что изменения растяжимости мускулов зависят не только от концентрации АТФ, но и от наличия резервов гликогена в мышечной ткани. В группе животных с высо-

ного уровня. Однако в мускулах, имеющих конечную величину рН 5,8, критический уровень концентрации АТФ в начале быстрой фазы составляет только 30% ее первоначального содержания.

Небольшие изменения концентрации АТФ в конце процесса гликолиза оказывают решающее влияние на растяжимость мускула и конечное падение скорости превращения АТФ соответствует в каждом отдельном случае наступлению окоченения. Это положение иллюстрируется кривыми рис. 25, построенными по данным Лоури [54], а также Бейт-Смита и Бендолла [37]. Следовательно, окоченение должно зависеть не только от определенного уровня содержания АТФ, но и от скорости его снижения, связанной с ослаблением ресинтеза и зависящей от наличия резервов гликогена.

Оказалось также возможным определить коэффициенты Q_{10} для изменений величины растяжения и содержания АТФ и креатинфосфата в мускулах кролика в процессе его окоченения. Эти коэффициенты приведены в табл. 11.

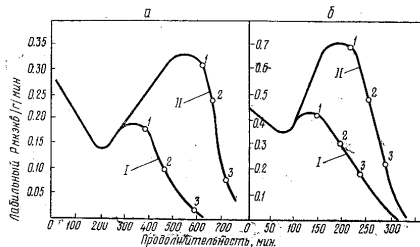


Рис. 25. Зависимость наступления окоченения от скорости превращения АТФ в мышцах (Бейт-Смит и Бендолл и Лоури): а — большая поясничная мышца кролика при 17°С: I — конечный рН 6,55; II — конечный рН 5,75; б — мышца лошади при 37°С: I — диафрагма, конечный рН 5,76; II — длинная мышца спины, конечная величина 5,51; уменьшение растяжимости: I — 0%; 2 — 50%; 3 — 100%.

кими запасами гликогена, где распад АТФ задерживается из-за большей продолжительности гликолитического цикла, изменения растяжимости протекают в более поздние сроки и при более низком содержании АТФ.

Бейт-Смит и Бендолл [34, 38] обнаружили начало быстрой фазы окоченения при 78—85% начального содержания АТФ в мускулах кролика, имеющих конечную величину рН 6,6, и окоченение, когда ее количество достигает 20% первоначаль-

Таблица 11

Параметры	Продолжительность изменений (в мин) при температуре, °С		Коэффициент Q_{10}
	17	37	
Уровень креатинфосфата	150 150	63 63	1,55
Уровень АТФ	470 570	196 234	
Растяжимость мускула	474	201	1,55
	654	260	1,56
Среднее	—		1,55

Точное совпадение коэффициентов Q_{10} для процессов распада АТФ и изменения растяжимости мускулов является дополнительным доказательством наличия тесной взаимосвязи между ними.

На мясе крупного рогатого скота динамика легкогидрируемого Р АТФ впервые прослежена в 1951 г. [24]. Представленные на рис. 26 экспериментальные данные [24] об изменениях легкогидролизуемого фосфора мяса крупного рогатого скота говорят о том, что количество АТФ в парном мясе составляет в среднем

159,78 мг % (19,69 мг % легкогидролизуемого Р). В результате быстропроисходящего распада содержание легкогидролизуемого Р к 12-му часу снижается до 9,1% первоначальной величины, т. е. за этот период времени разлагается свыше 90% АТФ, содержащейся в парном мясе.

Как будет показано ниже, распад АТФ в процессе нарастания посмертного окоченения вызывает переход большей части актомиозина в нерастворимое состояние. При этом вследствие наличия в мясе на данной стадии его послеубойных изменений остаточного легкогидролизуемого фосфора не может образо-

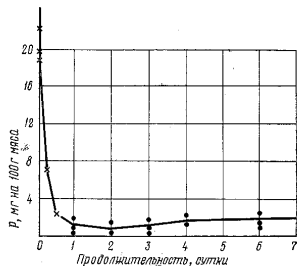


Рис. 26. Изменения содержания легкогидролизуемого фосфора в процессе хранения мяса при 0—4°С (Соловьев и сотрудники).

ваться высокоактивный актомиозин. В дальнейшем распад легкогидролизуемого фосфора резко замедляется, а в некоторых случаях к концу вторых суток хранения практически приостанавливается. После вторых суток наблюдается некоторое увеличение его количества. Ни в одной серии опытов не наблюдалось полного исчезновения легкогидролизуемого фосфора в процессе хранения мяса.

Данные о наличии и увеличении количества легкогидролизуемого Р в охлажденном мясе крупного рогатого скота впоследствии были подтверждены Пальминым [17].

Как известно, кроме аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), аденозиндифосфорная кислота (АДФ) и пирофосфорная кисло-

та также содержат легкогидролизуемый фосфор. Установить его наличие и природу в охлажденном мясе очень важно для правильного понимания сущности созревания мяса, т. к. актомиозиновый комплекс диссоциирует на составляющие его компоненты (актин и миозин) не только в присутствии АТФ, но и пирофосфорной кислоты [17].

Следовательно, в присутствии этих кислот актомиозин с высоким процентом активности не может образоваться. Аденозиндифосфорная и ортофосфорная кислоты такими свойствами не обладают.

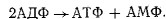
Из полученных нами данных следует, что через 1—2 суток после убоя фракция остаточного фосфора в основном состоит из неорганического ортофосфата и негидролизуемого фосфора. Следовательно, на этой стадии послеубойного хранения наличие остаточного фосфора в этой фракции не может быть отнесено за счет АТФ, АДФ и пирофосфорной кислоты. Вместе с этим нами было доказано, что увеличение легкогидролизуемого фосфора на 4—6-е сутки созревания мяса должно быть отнесено за счет появления в экстракте пирофосфорной кислоты или АДФ, но не АТФ. Ввиду того, что пирофосфорная кислота оказывает на актомиозиновый комплекс действие, аналогичное АТФ, не исключена возможность влияния образующегося остаточного легкогидролизуемого фосфора на процесс диссоциации актомиозина на актин и миозин.

Результаты выполненных исследований также выясняют природу ферментов, ответственных за процесс послеубойных превращений АТФ.

Как уже было сказано, в этих превращениях принимают участие ферменты гликолиза и миозиновая АТФаза. Однако последний фермент не может быть единственным, принимающим участие в распаде АТФ, так как он катализирует только реакцию: $\text{АТФ} \rightarrow \text{АДФ} + \text{неорганический фосфор (Р)}$.

Поэтому он должен был бы приводить к значительному увеличению количества АДФ в мускулах после прекращения жизни животного.

Однако этого не происходит. Бейли [30] показал, что после прекращения жизни АДФ обычно не накапливается в больших количествах в мускулах кролика. Поэтому необходимо вмешательство в этот процесс миокиназы, катализирующей реакцию



Следовательно, миокиназа является дополнительным фактором, определяющим скорость распада АТФ.

Рассмотренные с таких позиций превращения АТФ убедительно объясняют явления, приводящие к послеубойному окоченению.

Наиболее существенным изменением в мясе после прекращения жизни животного является установленное Смородиным [22, 23] резкое уменьшение количества экстрагируемого миозина в течение первых суток хранения мяса после убоя животного. В это же время соответственно увеличивается количество белков стромы. По этим данным содержание экстрагируемого миозина в мясе через 1 ч после убоя составляет 0,98%, а через 24 ч — только 0,44%. Одновременно с этим количество белков стромы увеличивается с 1,02 до 1,65%. Таким образом, в течение первых суток после убоя более 50% всего содержащегося в мышечной ткани миозина переходит в нерастворимое состояние.

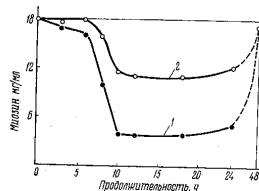


Рис. 27. Изменения растворимости миозина во время нарастания послеубойного окоченения мышц кроликов (Эрдош):
1 — экстрагирование миозина 0,6 М KCl; 2 — экстрагирование миозина в присутствии 0,3% АТФ.

Эрдош [45] на мускулах кроликов выяснил, что параллельно с развитием окоченения уменьшается растворимость актомиозина (рис. 27), которую можно восстановить добавлением АТФ.

Однако из опытов Эрдоша [45] не было ясно, является ли полным восстановление растворимости актомиозина при добавлении АТФ.

Наши опыты [24, 25], а также исследования Пальмина [17], выполненные на мясе крупного рогатого скота, подтверждают данные Эрдоша о влиянии АТФ на растворимость актомиозина. Кроме того, установлена [17] возможность увеличения утраченной актомиозином при окоченении способности экстрагироваться солевыми растворами до предела, характерного для горячего мяса. В этом случае экстракцию мяса следует вести с добавлением АТФ.

Отсюда вывод: окоченение и нерастворимость актомиозина являются различными проявлениями или последствиями отсутствия АТФ.

Последующие работы в значительной мере выяснили причины, вызывающие это явление. Так, венгерской школой биохимиков [31, 45] было установлено, что при определенных условиях мышечные белки (актин и миозин) соединяются в комплекс (актомиозин), диссоциирующий в присутствии АТФ на свои составные части.

Изменения степени гидратации в зависимости от факторов, обуславливающих послеубойное окоченение, изучал Гамм [48, 49]. Им выявлено, что непосредственно после убоя мускул находится в состоянии очень высокой гидратации. При последующем хранении в течение 1—2 суток наблюдается сильное падение способности мяса связывать влагу. Послеубойные изменения гидратации имеют большое значение для переработки мяса и оказывают влияние на увеличение его жесткости при наступлении послеубойного окоченения. Как было показано автором, такое явление вызывается тем, что минимум гидратации и максимум жесткости после убоя животного совпадают по времени. К 24 ч хранения содержание в мясе связанной воды уменьшается с 90 до 72—75% к общей влаге мяса.

Уменьшение гидратации мышечных белков отчасти объясняется падением величины рН мышц от 7,0 до величины, близкой к изоэлектрической точке мышечных белков (рН 5,0—5,5). Но нельзя объяснить потерю способностью связывать влагу только падением величины рН, так как отделение мышечного сока происходит даже в том случае, когда рН снижается незначительно. Например, это имеет место в мясе утомленных животных, у которых содержание гликогена перед убоем было очень небольшим. Решающим фактором уменьшения способности связывать воду является распад АТФ. Автор показал, что сильное падение способности связывать воду мышцами крупного рогатого скота в пределах первых двух суток после убоя должно быть отнесено примерно на $\frac{2}{3}$ за счет распада АТФ и только на $\frac{1}{3}$ за счет падения рН вследствие накопления молочной кислоты.

При изучении влияния добавления АТФ на гидратацию мышц крупного скота Гамм обнаружил зависимость эффекта от концентрации АТФ и продолжительности хранения мяса. В горячем-парном мясе содержание АТФ уже в концентрации 0,0015 моля вызывает размякание тканей и повышение их гидратации. Это примерно то количество, которое по Маршу [61] соответствует концентрации, необходимой для увеличения объема измельченной мышечной ткани при действии фактора Марша — Бендолла (0,0016 М).

В говяжьем мясе АТФ в концентрациях ниже 0,0005 М всегда оказывает сокращающее и дегидратирующее действие. Эта способность к сокращению при добавлении АТФ сохраняется также и после длительного хранения.

Если концентрация АТФ превышает 0,0012—0,0015 М, АТФ оказывает на хранившийся мускул гидратирующее и размягчающее действие. Следовательно, при этих сравнительно высоких концентрациях распад АТФ протекает недостаточно быстро,

чтобы вызвать немедленное сокращение. Такое размягчающее действие проявляется недолго, так как, спустя уже несколько минут, наступает сокращение и сильно уменьшается способность связывать воду при прогрессирующем распаде АТФ.

Увеличенная в результате повышения концентрации АТФ до 0,015 М гидратация при последующем хранении мяса лишь незначительно снижается и падение совсем не наблюдается при концентрации АТФ 0,03 М.

ОСОБЕННОСТИ ОКОЧЕНЕНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ МЫШЦАХ И В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Было установлено [52, 53], что различные мышцы крупного рогатого скота отличаются по содержанию гликогена, АТФ, креатинфосфорной кислоты, по начальной и конечной величинам рН. Поэтому у них разный по продолжительности период задержки окоченения.

Изменения, происходящие в процессе послеубойного окоченения различных мышц крупного рогатого скота, показаны в табл. 12.

Таблица 12

Мышцы	Продолжительность периода задержки, мин (при 37° С)	Величина рН		Начальное содержание ЛГФ — АТФ, %	Содержание ЛГФ — АТФ		
		начальная	конечная		начальное	при наступлении окоченения	Начальное содержание креатинфосфата
Psoas major . . .	100—145	6,35—6,50	5,42—5,49	917	13	5	3
Semitendinosus . .	145	6,58	5,45	896	—	—	—
Longissimus dorsi	163—220	6,62—6,85	5,48	926	17	5	11
Sup. pectoral . . .	200	6,80	5,39	—	19	8,5	12
Semimembranosus	223	6,76	5,45	1189	—	—	12
Gluteus	275	6,88	5,46	—	23	11	17

Примечание. Легкогидролизуемый фосфор (ЛГФ) АТФ и фосфор креатинфосфата показаны в % к общему растворимому фосфору мышц.

Наблюдаемые явления зависят от различий в функциях, выполняемых мышцами в организме животного.

В то же время основные биохимические процессы идентичны при окоченении мышц различных видов животных. Однако течение процесса окоченения и связанные с ним биохимические явления у каждого вида животных имеют свои особенности.

Например, для мышц крупного рогатого скота [63] и кроликов [36] в интервале 17—37° С имеется отчетливо выраженная разница в величине коэффициента Q_{10} процесса снижения ве-

личины рН. Для этих двух видов животных показатель Q_{10} соответственно составляет 1,9 и 1,6. Следовательно, при 17° С для наступления окоченения мышц крупного рогатого скота требуется в 1,5 раза больше времени, чем для мышц кроликов [63].

Весьма существенное влияние оказывают условия предубойного содержания животных на процессы гликолиза мяса.

Так, кролики, голодавшие перед убоем 24—60 ч, дали среднюю конечную величину рН мышц 6,45 против 5,90 для хорошо накормленных и отдохнувших перед убоем [36]. Этот фактор, хотя и в меньшей степени, оказывает также влияние на мясо свиней [43, 59, 60]: конечная величина рН мяса животных, отдохнувших в течение ночи перед убоем и получавших при этом корм, равнялась в среднем 5,58 против 5,87 для неотдыхавших или отдохнувших без кормления. Даже это небольшое различие в рН оказывает существенное влияние на стойкость мяса, увеличивая в два раза время появления поверхностного ослизнения при мокром посоле. Утомление свиней, вызванное их перегонем перед убоем на расстояние 400 м, привело к повышению конечного рН мяса до 6,00—6,18 против 5,75—5,83 для контрольной группы.

В мышцах крупного рогатого скота резервы гликогена восстанавливаются значительно быстрее [35, 32, 44, 72, 66], и поэтому в отличие от кроликов и свиней скормливание глюкозы крупному рогатому скоту перед убоем не оказывает влияния на конечную величину рН их мышц [52, 53]. Чередование работы и отдыха (тренировка мышц) в течение 1—2 недель для этого вида животных приводит к увеличению содержания мышечного гликогена, превышающего после этого исходный уровень более чем на 40%. По этой причине животные пастбищного содержания дают после убоя более низкую конечную величину рН, чем животные стойлового содержания [35].

Следовательно, для получения мяса хорошего качества во всех случаях требуется тщательное соблюдение условий предубойного содержания животных, хотя они и неодинаковы для разных видов.

Период задержки наступления окоченения в баранине менее продолжительный, чем в мышцах кроликов, а быстрая фаза соответственно является более длительной. Это является следствием того, что в данном случае изменения эластичности мышц начинаются, когда рН на 0,6 единицы выше, чем в мышцах кроликов [65].

На рис. 28 показано влияние изменений [65] температуры в пределах от 7 до 37° С на скорость падения рН в бараньем мясе. При понижении температуры от 27 до 17° С скорость образования кислоты уменьшается в бараньем мясе приблизительно

наполовину, а в говяжьем мясе — меньше чем на одну треть. Следовательно, в производственных условиях, когда окоченение развивается в процессе охлаждения мясных туш, мышцы крупного рогатого скота будут переходить в состояние окоченения быстрее, чем мелкого.

П. Курудимовым [10] были получены результаты, согласно которым распад гликогена в баранине протекает медленнее и содержание молочной кислоты меньше, чем в говяжьем мясе.

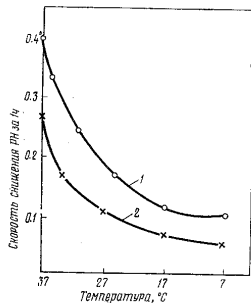


Рис. 28. Влияние температуры на скорость накопления кислоты в мышцах:

1 — мелкого рогатого скота; 2 — крупного рогатого скота (Марш и Томпсон).

и т. д.), влияет на скорость наступления окоченения и делает мясо более жестким.

Имеются также особенности в протекании процесса окоченения в мускулах китов [62]. По мере того, как мускулы китов вступают в стадию окоченения, происходит значительный синтез мышечных белков и выделяется свободная влага. Наряду с этим концентрация АТФ остается высокой в течение длительного времени. С этими данными хорошо согласуются результаты, полученные Головкиным и Першиной [2, 3]: мускулы сома, хранившиеся при низкой положительной температуре, по крайней мере в течение 3 дней, содержали повышенные количества АТФ, что вызывало диссоциацию актомиозинового комплекса.

Сравнительные данные, характеризующие развитие окоченения в мускулах разных видов животных, суммированы в табл. 13.

Таблица 13

Виды животных и рыб	Средняя продолжительность до полного развития окоченения, ч	Конечная величина рН	Начальное содержание АТФ (мг на 1 г ткани)	Литературные источники
Кролик	1,5—4,0	5,9	4,1	[34, 36, 38]
Курица	2,0—4,0	5,8—5,9	4,8	[46]
Свинья	4,5—18,0	5,4—5,5	—	[35, 41]
Мелкий рогатый скот	24,0	5,6—5,8	—	[55, 56]
Крупный рогатый скот	10,0—24,0	5,4	3,1	[63]
Крупный рогатый скот	4,0*	5,4	3,1	[63]
Лошадь	3,5—4,5*	5,5—6,0	2,3—3,2	[54, 55]
Кит	14,0—50,0	5,5—5,9	3,0	[62]
Судак	24,0	—	—	[2]
Карп	24,0—72,0	—	2,4	[2]
Щука	48,0	—	—	[2]
Треска	48,0—72,0	—	—	[69]
Сом	72,0—96,0	—	2,7	[2]
Радужная форель	96,0—120,0	—	—	[69]

* При температуре 37° С.

Как видно, средняя продолжительность времени до полного развития окоченения у разных видов животных колеблется в широких пределах от 1,5 до 120 ч.

ТЕПЛОЕ ОКОЧЕНЕНИЕ И ОКОЧЕНЕНИЕ ПРИ ОТАИВАНИИ

Если парное мясо подвергается тепловой обработке, когда в нем еще не началось послеубойное окоченение, то в мышечной ткани развиваются изменения, сходные по морфологическим признакам с теми, которые протекают при окоченении [70]. При этом в мышечных волокнах образуются в начале тепловой обработки (до 50° С) два типа узлов. Узлы первого типа аналогичны наблюдаемым при послеубойном окоченении, но отличаются только меньшей плотностью. В другом типе узлов, образующихся при тепловом окоченении, волокна имеют нерегулярные участки уплотнения и разрежения, узлы и промежутки между ними менее отчетливо выражены. У некоторых волокон имеются такие же, как и при обычном окоченении, изгибы и извилины.

Лоу [58] установил, что если мясо птиц подвергается кулинарной тепловой обработке до наступления в нем окоченения, то получается продукт более нежной консистенции. Однако

если окоченение развивается в процессе тепловой обработки, то мускулы становятся крайне жесткими. В ряде случаев бывает трудно избежать развития теплового окоченения. Например, оно наблюдается в мясе птиц, подвергнутому тепловой обработке через 6 мин после убоя [50]. Однако для говяжьего мяса, обладающего более продолжительным периодом задержки наступления окоченения, очевидно, этот промежуток времени будет также более длительным. Причины, вызывающие тепловое окоченение, в достаточной мере не выяснены.

Известно, что когда мускулы, замороженные немедленно после прекращения жизни (до наступления в них послеубойного окоченения), оставляют для оттаивания при комнатной температуре, то в них происходит потеря эластичности, выделение сока и другие признаки окоченения [4, 5, 26, 64, 71, 75]. Так, например, при оттаивании блоков замороженного мяса китов потеря сока может достигать 30—40% веса мышц [42, 73, 76]. В связи с разработкой методов замораживания мяса в парном состоянии [8, 15, 27] интерес к этому явлению в последние годы значительно возрос.

По данным Марша и Томпсона [65], при оттаивании сок выделяется из замороженного в парном состоянии мяса в тех случаях, когда к моменту замораживания мускул прошел приблизительно одну треть быстрой фазы окоченения. Явления, связанные с окоченением при оттаивании, также зависят от скорости его (рис. 29). Медленное оттаивание полосок мускулов, замороженных перед наступлением окоченения, не вызывает увеличения выделения сока.

Эти данные относятся только к вырезанным из мускулов полоскам. При оттаивании целых туш или неповрежденных мускулов даже в поверхностных слоях мышечной ткани окоченения почти не наблюдается [52, 65]. Более того, количество отделяющегося при оттаивании, варке и центрифугировании сока и содержание в нем белковых веществ несколько больше в мускулах, подвергнутых предварительному охлаждению перед замораживанием, чем в мускулах, замороженных в парном состоянии [15, 71].

Однако подвергавшиеся такой обработке мускулы птиц были более жесткими, чем незамороженные контрольные образцы, и их последующая выдержка в процессе созревания могла только частично устранить этот недостаток [46]. Авторы [46, 4, 26, 69] также выяснили, что при оттаивании мышечной ткани АТФ и гликоген подвергаются быстрому распаду. Причем при температурах от 0 до -2°C этот распад происходит быстрее, чем в незамороженных мускулах при 10°C . Например, в большом поясничном мускуле крупного рогатого скота скорость распада АТФ после замораживания и при последующем оттаивании возрастает в 5 раз. В мускулах рыб наблюдается увели-

чение этой скорости в 50 и даже в 200 раз. Этому способствует увеличение при замораживании активности миеозимовой АТФазы [16].

Опыты показали [4, 16], как отрицательные температуры тормозят происходящие в мышечной ткани биохимические процессы: задерживается распад АТФ и падение растворимости актомиозина. При этом медленно развиваются характерные для окоченения явления в парном мясе при его длительном хранении в мороженом состоянии. Однако в этом случае окоченение

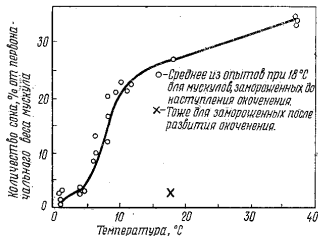


Рис. 29. Влияние температуры воздуха камеры для дефростации мяса на количество выделяющегося сока при оттаивании мышц, замороженных перед наступлением окоченения (Марш и Томпсон).

не бывает глубоким. Это объясняется уменьшением накопления молочной кислоты за счет усиления процесса амилализа и ингибирования фактора Марша — Бендолла ионами кальция, освобождающимися при повреждении мышечных волокон [13]. При оттаивании и последующем выдерживании такого мяса при низкой положительной температуре расслабление окоченения еще наблюдается на вторые сутки его хранения в размороженном состоянии [4].

Очевидно, что при оттаивании замороженного в парном состоянии мяса, в котором уже частично наступило окоченение, процессы его дальнейшего развития и расслабления в поверхностных и глубинных слоях будут протекать одновременно. Они в значительной мере будут компенсировать друг друга, если рассматривать мускул в целом. В таком случае конечный результат определяется глубиной процесса окоченения к концу замораживания, зависящей от состояния животного перед убо-

ем, особенностями изучаемого мускула, продолжительностью времени между убоем и замораживанием, а также способом замораживания. Результат будет также зависеть от условий и сроков хранения в замороженном состоянии, режима процесса оттаивания и длительности последующего хранения при низких продолжительных температурах.

Следует также учитывать, что прикрепление мускулов к скелетному остову и отсутствие в них механических повреждений сокращают развитие процессов окоченения при оттаивании [65]. С другой стороны, отделение мускулов от туши в контрольных образцах, подвергающихся двухсуточной выдержке при низких положительных температурах, задерживает расслабление окоченения (об этом будет сказано ниже).

В зависимости от указанных факторов замороженное в парном состоянии мясо может отличаться от охлажденного суточного или двухсуточного хранения, в котором еще не вполне устранены характерные для окоченения явления.

При всех указанных обстоятельствах замороженное в парном состоянии мясо окажется хуже созревшего.

Итак, послеубойное окоченение характеризуется следующим ходом биохимических процессов.

1. Большая часть креатинфосфата распадается до первых физически обнаруживаемых признаков окоченения. Креатинфосфат, принимая участие в гликолитическом цикле, действует только как средство ресинтеза АТФ и не может играть какой-либо другой роли в изменениях, связанных с послеубойным окоченением мышц.

2. АТФ необходима для предупреждения перехода мускула в состояние окоченения.

Продолжительность периода задержки определяется длительностью гликолитического цикла. Он тем больше, чем выше начальная величина рН и ниже конечная.

3. В течение периода задержки падение уровня АТФ (вследствие ее расщепления миозинозой АТФазой) уравновешивается ресинтезом, происходящим при гликолизе.

4. Фактор, имеющий белковую природу и активируемый солями магния, ингибирует миозиновую АТФазу и тем самым задерживает в ее присутствии переход мускулов в состояние окоченения.

5. Быстрая фаза окоченения начинается, когда нарушается равновесие между распадом АТФ и ее ресинтезом, и концентрация АТФ понижается.

6. Наступление быстрой фазы окоченения зависит не только от определенного уровня содержания АТФ, но и от скорости снижения этого уровня. Эта скорость связана с ослаблением ресинтеза и обусловлена наличием резервов гликогена и величиной рН.

7. Освобождающиеся из актина соли кальция инактивируют фактор Марша — Бендолла и приводят к увеличению активности миозинозой АТФазы и, следовательно, к быстрому расщеплению АТФ.

8. Распад АТФ вызывает образование нерастворимого актомиозинового комплекса, обуславливающего повышенную жесткость мышц в период послеубойного окоченения. Недостаток АТФ и нерастворимость актомиозина являются различными проявлениями и причинами окоченения.

9. Распад АТФ — главная причина понижения гидратации мышц в период их окоченения. Смещение рН в кислую сторону от нейтральной точки вызывает только на $1/3$ уменьшение гидратации мяса при послеубойном окоченении. Остальные $2/3$ должны быть отнесены за счет распада АТФ. Чем ниже влагопоглощающая способность мяса (содержание в нем связанной воды), тем больше его жесткость.

10. К 12-му часу хранения при 0°С распадается свыше 90% АТФ парного мяса. Охлажденное мясо содержит фракцию остаточного легкогидролизуемого фосфора. После двух суток хранения в мясе наблюдается некоторое увеличение количества ЛГФ. На 4—6-е сутки хранения остаточный ЛГФ не принадлежит АТФ, его присутствие обуславливается наличием пирогосфата или АДФ.

11. В процессе хранения мяса наряду с распадом свободного гликогена постепенно уменьшается количество трудноизвлекаемого гликогена.

12. В результате различий в химическом составе и наличия биохимических особенностей процесс окоченения в различных мускулах одного и того же вида животных, а также в однородных мускулах различных видов животных протекает с неодинаковой интенсивностью и завершается в различные сроки.

13. Начальная величина рН мускулов обусловлена активностью движений животного непосредственно перед убоем или в момент его. Конечная величина рН зависит от условий кормления и степени утомления животного перед убоем, т. е. наличия резервов гликогена.

14. Процесс окоченения при оттаивании мышц, замороженных немедленно после убоя животного, связан с быстрым распадом АТФ и гликогена при температурах от 0 до -2°С и увеличением при замораживании активности миозинозой АТФазы. Однако такое окоченение не бывает глубоким. Это объясняется ингибированием фактора Марша — Бендолла освобождающимися при повреждении мышечных волокон ионами кальция и уменьшенным накоплением молочной кислоты. Последнее происходит в результате усиления амилитического распада гликогена.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРОЦЕССА СОЗРЕВАНИЯ МЯСА

При охлаждении и хранении охлажденного мяса протекают биохимические процессы, оказывающие различное влияние на его качественные показатели. Самые значительные, иногда еле уловимые изменения в составе или строении компонентов могут оказывать решающее воздействие на свойства мяса, возникающие в процессе созревания. Поэтому очень важно определить, в каком направлении протекают биохимические процессы при автолизе, какие органолептические и физико-химические изменения они вызывают в мясе при его созревании.

АВТОЛИЗ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В АСЕПТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Несмотря на многочисленные физико-химические, биохимические и гистологические исследования, главные причины послеубойного улучшения консистенции, вкуса и аромата мяса в период после развития ооченения еще недостаточно четко установлены. В литературе высказываются противоречивые суждения по этому вопросу. Автолитические изменения углеводов мышечной ткани подробно рассмотрены в главе о послеубойном ооченении, и поэтому в этом разделе основное внимание уделено протеолитическим процессам, протекающим при асептическом автолизе. Можно предположить, что автолитические изменения, если они являются причиной указанных явлений, обязаны действию протеолитических ферментов группы катепсина, содержащихся в относительно небольших количествах в мышечной ткани. Поэтому для четкого понимания сущности и направленности биохимических изменений, приводящих к улучшению нежности мяса в процессе его созревания, представляет интерес изучение свойств катепсинов мышечной ткани и характера их действия по перевариванию белков мяса при асептическом автолизе.

Катепсины были найдены в различных органах и тканях почти всех видов животных. Наиболее изучены катепсины селезенки, которые отличаются друг от друга по их отношению к сульфгидрильным активаторам. Янда [123] показал, что протео-

литическая катепсиновая активность в различных типах мышц неодинакова (рис. 30) и находится в прямой зависимости от степени их физиологической активности.

В соответствии с этим Бредли [92] отмечает, что активные красные мускулы ноги цыпленка автолизуют значительно интенсивнее, чем неактивные грудные мускулы. Красные мускулы крупного рогатого скота, кролика и собаки обладают большей протеолитической активностью, чем белые мускулы птиц. Среди рыб соответственно наибольшей активностью обладает мышечная ткань скумбрии, 70% белков которой при продолжительном автолизе подвергаются деструкции. В противоположность этому мышцы окуня, карпа и акулы характеризуются очень небольшими изменениями белков при автолизе.

Цендер и сотрудники [184] дают сравнительную характеристику протеолитической активности различных органов и тканей, экстрагированных 2%-ным раствором KCl (активность выражена в единицах увеличения оптической плотности при 279 мкм):

Почки	1,900
Печень	1,500
Легкие	1,000
Сердце	0,330
Большой поясничный мускул	0,025

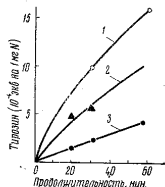


Рис. 30. Активность катепсинов в различных типах мышц (Янда):
1 — сердце; 2 — диафрагма;
3 — кроножная мышца.

Низкая протеолитическая активность мышечной ткани может быть вызвана специфической устойчивостью белков мышечной ткани к действию указанных ферментов или незначительным количеством протеиназ в ткани. Подтверждением первого предположения является наличие в печени после продолжительного автолиза только 15% непереваренных склеропротенинов от их исходного количества, а в мышцах — 70% устойчивых к автолизу белков при проведении этого процесса в оптимальных условиях [92]. В пользу второго предположения говорят полученные Цендером и сотрудниками [184] данные о том, что при добавлении к мышечным экстрактам легкорасщепляемого протеолитическими ферментами субстрата не усиливается освобождение аминокислот.

В действительности, по-видимому, имеют значение оба фактора.

Идентичность катепсинов, содержащихся в различных органах и тканях животного организма, не доказана.

Выполненными исследованиями установлено наличие в мышечной ткани по крайней мере трех типов протеолитических ферментов.

К первому типу относится собственно катепсин, очевидно являющийся наиболее важным по своему действию на белки мяса.

Протеиназа мышечной ткани (катепсин) имеет оптимум pH при 3,8—4,5 [82, 83, 126, 166, 169, 171].

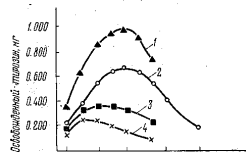


Рис. 31. Влияние pH на протеолитическую активность при 37°С катепсина мышечной ткани крупного рогатого скота при разной продолжительности реакции:

1 — 24 ч; 2 — 4 ч; 3 — 2,5 ч; 4 — 1 ч (Славинский и соавтор).

буфер pH 4,5 > 0,15 M ацетатный буфер pH 4,0 + 0,6M KCl > 50%-ный глицерин > 0,25 M H₂SO₄. Катепсин мышечной ткани инактивируется при pH 2,0—2,5 и его активность наиболее устойчива в интервале pH около 6,0 [169]. В течение одного часа инкубирования мышечных экстрактов при pH 6,0 сохраняется 85% первоначальной протеолитической активности, в то время как при pH 3,1 и 7,0 — только 46%. Достаточно полная инактивация катепсина наблюдается при нагревании мяса до 77°С в течение 20 мин [74]. Вне зависимости от условий pH ферментативная активность катепсина повышается при диализе экстрактов [166]. Это, очевидно, связано с удалением продуктов автолиза, оказывающих угнетающее действие [75]. Фермент индифферентен к редуцирующим веществам, цианиду и сульфидриальным соединениям [82, 169]. Его активность повышается в присутствии солей Fe⁺⁺, Mn⁺⁺ и Mg [169], соли Ca, Zn и Co не оказывают на нее существенного влияния, а соли Ba — ингибируют.

Скорость ферментативного гидролиза при низкой concentra-

ции фермента является линейной по отношению к продолжительности реакции и пропорциональной концентрации фермента [169].

Снок и Нейрат [169] сравнивали между собой протеолитическую активность различных типов экстрактов из мышц кроликов и установили, что различные экстракты по своей способности извлекать из мышц протеолитические ферменты располагаются в следующем порядке:

IMLiCl при pH 6,0 >
> 5,0% KCl при pH 6,0 >
> 2,0% KCl при pH 6,0 >
> 0,10 M фосфатный буфер pH 7,5 > вода >
> 0,15 M ацетатный

ции фермента является линейной по отношению к продолжительности реакции и пропорциональной концентрации фермента [169].

Изучение активности фермента при 37°С показало [166], что по мере увеличения продолжительности реакции увеличивается и оптимум pH (рис. 31). Вместе с этим по мере сдвига pH в кислую сторону повышается и оптимальная температура действия фермента (рис. 32). Эти данные указывают на вероятность предположения о наличии нескольких индивидуальных ферментов в исследовавшемся препарате.

Следует также отметить, что нативный коллаген при низких значениях pH (от 2,0 до 4,5) становится чувствительным к действию катепсина [164].

Установлено [82], что катепсин мышечной ткани крупного рогатого скота способен действовать также и при низких температурах.

Однако хранение облученного мяса при температуре 0—4°С в течение 7 месяцев в значительной мере позволяет задержать в нем автолитические процессы, протекающие под действием протеолитических ферментов [74]. Уровень содержания аминокислот через 15 дней хранения при 38°С соответствует тому, который наблюдается только через 100 дней хранения при 25°С [184].

В противоположность этому Дворжак [102] приходит к выводу: в процессе автолиза при 37°С количество свободных аминокислот почти не меняется, в то время как при 5°С наблюдается их увеличение и появление новых аминокислот: тирозина, фенилаланина и аспарагиновой кислоты.

Облучение дозой в 1,5 млн. фэр уменьшает протеиназную активность говяжьего мускула на 50% [38, 98]. При более низкой дозировке имелось лишь небольшое уменьшение протеиназной активности. В литературе имеются указания [46] об уменьшении активности катепсина мышечной ткани крупного рогатого скота на 40—45% через 1 сутки после убоя животного, и на 62% через 5 суток. Эти данные не согласуются со свойствами катепсина, имеющего максимальную устойчивость при pH около 6,0.

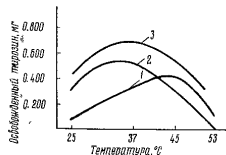


Рис. 32. Влияние температуры на протеолитическую активность катепсина мышечной ткани крупного рогатого скота при разной величине pH. Продолжительность инкубации 4 ч: 1 — pH 4,0; 2 — pH 4,8; 3 — pH 4,4 (Славинский и соавтор).

В связи с этим вызывает сомнение применявшаяся автором методика [46]: наставание измельченной мышечной ткани различных, сравниваемых между собой сроков созревания с растворителем в течение 1 суток при комнатной температуре, добавление к вытяжкам перед их инкубированием и титрованием 0,2 н. щелочью растворов H_2S (сероводородная вода), меняющих свою концентрацию при стоянии, и т. д.

Ко второму типу найденных в мышечной ткани протеолитических ферментов относится так называемая мышечная триптаза, имеющая оптимум pH в интервале 8,0—9,0 [128, 166]. Опубликованы также сообщения о выделении из мышечной ткани ферментов, имеющих оптимум действия при pH 7,0 [82] и pH 10,0 [166]. Свойства указанных ферментов изучены недостаточно.

И, наконец, третий тип протеолитических ферментов мышц составляют различные пептидазы [46, 79, 161, 162, 167, 168] с оптимумом pH в интервале от 7,6 до 8,0.

Мышечная ткань обладает высокой пептидазной активностью [102, 168]. Среди мышечных пептидаз не были найдены карбоксипептидаза и эндопептидазы, гидролизующие несоединенные с концевыми аминными и карбоксильными группами пептидные связи [168]. Было установлено [102], что активность аминотрипептидазы, гидролизующей триглицин, в течение 15 дней процесса автолиза при 5°С не снижается. Этот же фермент обладал на протяжении всего процесса автолиза измеримой постоянной активностью при pH 5,7, в то время как активность остальных пептидаз наблюдалась только при pH 7,0—8,0.

По данным Смородинцева [53], измеренная при pH 8,0 активность пептидаз мышечной ткани крупного рогатого скота на десятый день хранения мяса при 4°С увеличивается в $2\frac{1}{2}$ раза по сравнению с исходной величиной. Аналогичные результаты, но с применением синтетических субстратов, получил Дворжак [102]. Как отмечает автор, это указывает на освобождение данных ферментов в процессе автолиза. Пептидаза мышечной ткани крупного рогатого скота активируется цистеином [82].

Цендер и сотрудники [184, 185] наблюдали почти полную дегенерацию волокон мышечной ткани ягнят, хранившейся при 25°С в течение 20—100 дней, и мускулов кроликов после 14 дней автолиза при 38°С (рис. 33). Однако эти же авторы сообщают, что мускулы свиней и овец через 35 дней хранения при 38°С имели не более 25% дегенерированных волокон. Шарп [163] при длительном хранении мускулов кроликов и быков такой дегенерации волокон не наблюдал.

Как показали исследования [163], в течение 1 месяца хранения при 5 и 37°С диаметр мышечных волокон уменьшается от 200—260 до 14—86 мк и 43—170 мк соответственно. По

другим морфологическим показателям также наблюдается существенная разница в ходе автолиза при этих двух температурных режимах. В процессе автолиза при 5°С распад преимущественно происходит поперек волокон, а при 37°С — вдоль. Остается без объяснения описанное автором необычное явление, заключающееся в том, что степень распада структуры ткани в течение 30 дней при 5°С была значительно большей, чем при 37°С. Таким образом, если судить об интенсивности протеолиза по накоплению конечных продуктов распада и



Рис. 33. Дегенерация мышечных волокон при 20-дневном асептическом автолизе (Цендер и сотрудники).

количеству расщепленного белкового азота, то степень дезинтеграции мышечной структуры не зависит от величины этих показателей.

Наряду с этим во всех без исключения хранившихся образцах (даже через 172 дня хранения при 37°С) основная структура волокон и фибрилл оставалась неповрежденной и сохраняла поперечную исчерченность [163].

Немедленно после наступления окончания и снижения величины pH в результате накопления молочной кислоты в мышцах начинаются протеолитические процессы [184], в результате которых содержание растворимого азота при 10-дневном автолизе мяса увеличивается с 10,5 до 13% от общего азота мяса [45]. Одновременно происходит накопление небелкового азота (рис. 34). На процесс образования небелкового азота не оказывают влияния условия асептического хранения исследуемых образцов в атмосфере воздуха или азота [163].

При этом интересно отметить, что скорость накопления небелкового азота в течение первых 10 дней асептического хранения при 37° в мускулах кроликов в два раза больше, чем в мускулах крупного рогатого скота, имеющих ту же конечную величину рН в интервале 5,5—5,8 [163]. В течение 5—6-месячного хранения при этих условиях содержание небелкового азота в указанных мускулах увеличилось с 10—13 до 31—37% от общего азота мяса.

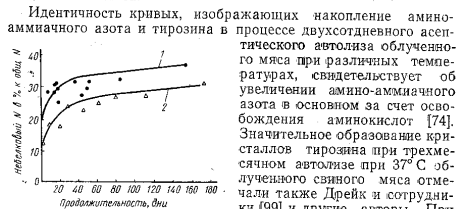


Рис. 34. Накопление небелкового азота в процессе асептического автолиза мышечной ткани при 37° С (по Шарну):
1 — мускулы кролика; 2 — мускулы быка.

увеличивается незначительно. С увеличением дозы облучения активность катепсина подавляется сильнее [32, 33]. В результате искусственного сдвига рН мяса от 5,6 до 7,2 протеолитические процессы при его длительном хранении не прекращаются, но их характер существенно изменяется. Несколько увеличивается освобождение цистина, сильно замедляется освобождение треона, глицина, серина, β-аланина и особенно тормозится отщепление тирозина [32].

Накопление свободных аминокислот в экстракте сопровождается [184] последовательным уменьшением растворимости белков в глициновом буфере [рис. 35].

Через 1 месяц хранения мускулов быка при 37° С [163] около 15% первоначального белкового азота становилось растворимым в трихлоруксусной кислоте (при 5° С — 4,4%), в то время как при 5° С количество растворимого в 0,1 М КСl белкового азота в течение этого срока не изменяется.

Автор выдвигает предположение, что все увеличение растворимого в трихлоруксусной кислоте азота происходит за счет

распада саркоплазматических белков, а фибриллярные белки мышц в этом процессе не принимают участия.

Цендер и сотрудники [184] методом электрофореза обнаружили весьма интересные изменения свойств белков мышц мелкого рогатого скота и кроликов в процессе их асептического анаэробного автолиза. Экстракция белков из ткани и последующее их электрофоретическое разделение производилось в 1 М глициновом буфере, имеющем рН 8,6. Это позволило изучить поведение не только саркоплазматических, но и миофибриллярных белков мышечной ткани.

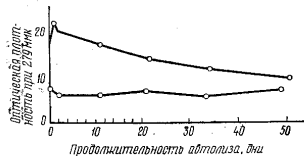


Рис. 35. Уменьшение содержания белков, растворимых в 1 М глициновом буфере (верхняя кривая) и увеличение количества свободных аминокислот (нижняя кривая) в процессе асептического автолиза мышечной ткани мелкого рогатого скота при 25° С (Цендер и сотрудники).

Авторами выяснено, что характер электрофореграмм экстрагированных белков мышечной ткани мелкого рогатого скота изменяется только после 20-го дня хранения при 25° С. При этом появляются три новых пика. Мышцы кроликов ведут себя аналогичным образом, но разницу можно наблюдать в еще более поздние сроки — через 50—70 дней хранения при тех же условиях. Однако при 38° С они наступают уже через 9 дней (рис. 36). Через 15 дней автолиза мускулов кролика при 38° С новые белковые составные части, обнаруживаемые на электрофореграммах, достигают приблизительно половины общего количества белка в экстракте. Авторы считают, что их появление является результатом протеолитических изменений миофибриллярных белков. Появляющиеся в процессе автолиза новые белковоподобные составные части мускулов характеризуются по их более высокой электрофоретической подвижности. Отсюда авторы выдвигают такое предположение: фибриллярные белки мышечной ткани в своем нативном состоянии относительно устойчивы при автолизе к действию протеолитических ферментов

и не расщепляются до аминокислот или фрагментов, имеющих низкий молекулярный вес и растворимых в трихлоруксусной кислоте. Действие протеолитических ферментов приводит лишь к образованию указанных выше новых белковоподобных составных частей.

В течение 6-месячного асептического автолиза при 37°С мускулов кроликов в коллагеновой фракции белков соединительной ткани не было обнаружено никаких изменений, приводящих к образованию компонентов, растворимых в 0,1 М. KCl [163].

Процессы, наблюдаемые в изолированной мышечной ткани при длительном асептическом автолизе в условиях повышенной температуры (25—37°С), ни в коем случае не могут служить характеристикой качественных и количественных изменений, происходящих при созревании мяса при низкой плюсовой температуре в производственных условиях.

Например, если в процессе асептического автолиза при 25°С изменения электрофретических свойств миофибриллярных белков могут быть зарегистрированы только через 20 суток хранения, то, очевидно, при созревании мяса в течение двух недель при 0—4°С они будут совершенно неуловимы. Тем не менее, знание сущности процессов, происходящих при автолизе, может дать весьма ценные указания о направлении, в котором должно вестись исследование. Кроме того, поскольку в производственных условиях бывает весьма трудно полностью исключить влияние микробиологического фактора, эти данные будут служить дополнительным доказательством автолитической природы наблюдаемых явлений.

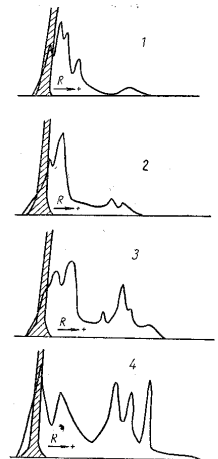


Рис. 36. Изменения электрофретических свойств белков мышечной ткани кроликов в процессе ее асептического автолиза в анаэробных условиях при 38°С (Цендер и сотрудники):

1 — парное мясо; 2 — через 4 дня; 3 — через 9 дней; 4 — через 15 дней.

ных условиях бывает весьма трудно полностью исключить влияние микробиологического фактора, эти данные будут служить дополнительным доказательством автолитической природы наблюдаемых явлений.

ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ СОЗРЕВАНИИ МЯСА

Многочисленные исследователи [8, 50, 94, 114, 115, 133, 136, 144, 165, 152, 170, 175] изучали изменения органолептических показателей в процессе созревания говяжьего мяса. По данным разных авторов, абсолютные величины изменений различных органолептических показателей колеблются так же, как и доля участия каждого из них.

Например, некоторые отмечают наряду с резким уменьшением жесткости также весьма существенное увеличение интенсивности вкуса мяса [144, 152] или вкуса и аромата жира [165]. В литературе также имеются указания на то, что при созревании мяса улучшение аромата [136, 152] и сочности [115] имеет второстепенное значение. Максимальное развитие желательного аромата достигается только на очень поздних стадиях технологического процесса (через 20—40 дней хранения мяса при низких положительных температурах). Нежность по сравнению с другими показателями улучшается более значительно. Некоторые считают, что в процессе 2—3-недельного хранения может быть некоторое ухудшение сочности мяса [115] и запаха жира [165]. Цвет внутренних слоев мяса при этом существенно не изменяется [115]. Изменения основных органолептических показателей в процессе созревания говяжьего мяса при низкой положительной температуре отражены в табл. 14, составленной по данным Пауль, Лоу и сотрудников [152]. (Ими применялась 10-балльная система оценки).

Таблица 14

Органолептические показатели	Балловая оценка показателей при продолжительности хранения, суток					Разница в оценке парного и созревшего мяса	
	0	1	2	4	9	баллы	изменения в конце процесса к началу, %
Нежность	3,5	5,8	6,6	7,0	7,9	4,4	125,7
Сочность	7,2	7,6	8,0	7,8	8,5	1,3	18,0
Аромат	7,7	7,1	7,8	8,0	8,6	0,9	11,7
Вкус мышечной ткани	5,8	7,4	7,8	8,2	8,6	2,8	48,3
Вкус жира	8,0	7,7	7,9	7,4	8,3	0,3	3,8
Общая балловая оценка	32,2	35,6	38,1	38,4	41,9	9,7	30,1
							100,0

Как видно из представленных данных, увеличение баллов нежности составляет свыше 45% от общего улучшения балловой оценки мяса, и, следовательно, этот показатель является основным. Одновременно достигается заметное улучшение вкуса

(28,8%). Остальные показатели изменяются в меньшей степени. Значение процесса созревания для улучшения нежности говяжьего мяса также можно определить при сравнении несозревшей и созревшей говядины по данным Детерейджа и Реймана [94].

Таблица 15

Органолептическая характеристика нежности	Уровень нежности, баллы	Несозревшее		Созревшее	
		число оценок	%	число оценок	%
Очень нежное	8,0—10,0	0	0	11	13,4
Нежное	6,0—7,9	9	11,0	49	59,8
Недостаточно нежное	4,0—5,9	44	53,7	19	23,2
Жесткое	1,0—3,9	29	35,3	3	3,6
Средняя нежность (в баллах)		4,5	100,0	6,7	148,9

Как видно из этой таблицы, процесс улучшения консистенции мяса при его созревании в разных тушах протекает с различной степенью интенсивности. Так, из 82 образцов созревшего мяса более 73% получили хорошую и отличную оценку (6,0 балла и выше), в то время как такую же оценку получили только 11% испытывавшихся образцов несозревшего мяса. С другой стороны, ниже 4,0 балла оценены 3,6% образцов созревшего и 35% несозревшего мяса. Большинство образцов несозревшего мяса (89%) было признано недостаточно нежным или жестким, а 73,2% образцов созревшего — нежным или очень нежным. Обычно большинство туш улучшает свою нежность при созревании в среднем на 2—3 балла (по 10-балльной системе), и по данным авторов это улучшение составляет в среднем около 49% к исходной величине. Следует отметить, что не было найдено никакой разницы в нежности мяса туш животных голштейнской и герфордской пород ни на третий, ни на пятнадцатый день после убоя [118]. Не было также значительных различий и в величине этого показателя, зависящих от степени упитанности [94, 115]. Все же авторами отмечается тенденция большего увеличения нежности при созревании туш более низких кондиций упитанности. Кроме того, нежность мяса, полученного от животного травяного откорма, в процессе длительного созревания при низких положительных температурах улучшалась в большей степени, чем зернового откорма [140], хотя это различие было незначительным. Мышечная ткань старых животных созревает медленнее, чем более молодых, так же, как мясо волов по сравнению с мясом коров [170].

В литературе отмечается [96, 153, 155] различие в степени улучшения нежности между мясом, созревшим в виде целой полтуши и отрубями, кусками или мускулами изолированными из нее.

В качестве примера в табл. 16 приведены данные Пауль и Братцлера [153] об изменении нежности говяжьего мяса в процессе его созревания при 5—7°С в туше и вне ее.

Таблица 16

№ туш	Условия созревания исследуемых образцов	Сопровождение резанием вареных образцов (в фунтах)
IV	9 суток без изъятия из туши	4,70
	9 суток вне туши	6,98
V	9 суток без изъятия из туши	6,60
	9 суток вне туши	10,45
VI	9 суток без изъятия из туши	6,25
	Мускул изъят из туши через 27 ч после убоя и 189 ч созрел вне туши	8,08

Из приведенных данных видно, что изъятие мускула из туши немедленно после убоя или после окончания охлаждения туши приводит при последующем созревании к значительному замедлению улучшения консистенции. Большая скорость охлаждения вырезанной мышцы не является главной и единственной причиной, ухудшающей консистенцию мяса. Мышца, охлажденная в составе туши, а затем удаленная из нее для дополнительного хранения, оказалась менее нежной, чем такая же неповрежденная мышца контрольной полтуши.

Аналогичное ухудшение консистенции наблюдалось авторами при продолжном разрезе мышцы без удаления ее из туши. Причины этого явления не выяснены.

Все приведенные факты свидетельствуют о коренном улучшении органолептических свойств мяса при созревании независимо от его сортности.

Для получения наибольшего эффекта от проведения процесса созревания с наименьшей порчей используют низкие температуры и регулируют влажность. Процесс особенно эффективен для туш, имеющих хорошо выраженный слой покровного жира, предохраняющего их от быстрой бактериальной порчи. Поэтому продолжительность хранения может быть длительной для туш хорошо упитанных животных, но относительно короткой для плохо упитанных.

В литературе имеются весьма противоречивые данные об оптимальных сроках созревания мяса крупного рогатого скота (табл. 17). Это объясняется: а) применением в качестве единст-

венного критерия степени зрелости субъективного органолептического метода оценки, б) использованием при исследовании различных химических и физико-химических показателей, недостаточно полно или не вполне правильно характеризующих изучаемый процесс, в) различными условиями выполнения экспериментов и индивидуальными особенностями образцов мяса. Применяя более строгие условия регламентации дегустацион-

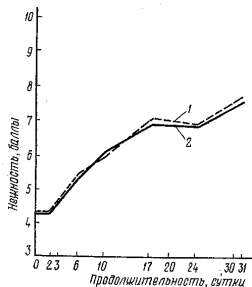


Рис. 37. Зависимость нежности мяса от продолжительности созревания при 0,6–1,7°С (Детерейдж и Харшам): 1 — средняя нежность; 2 — медианная нежность.

ной оценки, Детерейдж и Харшам [95] получили данные о зависимости величины показателя нежности мяса от продолжительности процесса созревания. Эти данные представлены графически на рис. 37.

Приведенные данные позволяют судить о непрерывно увеличивающейся нежности мяса. На рис. 37 это выражено почти прямой линией вплоть до 17 суток хранения. Между 17 и 24 сутками не происходит заметных изменений в величине изучаемого показателя, а между 24 и 31 сутками наблюдается новое увеличение нежности. Следовательно, на поздних этапах процесса созревания (после 24 суток хранения) причины увеличения нежности могут быть иными, чем в течение первых 17 суток.

Температурные условия процесса созревания, °С	Оптимальная продолжительность созревания, сутки	Литературный источник
0—4	1—3	Сморodinцев [47, 48]
3	4—6	Данилов [16]
0	6	Соколов [56]
—1—3	7	Трессер и Муррей [175]
2,2	10	Реферат статьи [37]
0—4	8—14	Астанин [2]
2—3	12—15	Манербергер и Миркин [24]
5	17	Моран и Смит [144]
0,6—1,7	17	Детерейдж и Харшам [95]
Низкая положительная	6—19	Головкин [38]
0—4	14—28	Рейнш [38]
0—2,2	14—28	Хоатланд, Макбрейд и Поувик [114]
Низкая положительная	29	Штейнер [170]
0—4	21—35	Реферат статьи [36]
1	14—42	Том и Хунтер [173]

Органолептическая характеристика вареного мяса I и II сортов и полученного из него бульона также производилась нами [61] в зависимости от продолжительности процесса созревания при 0°С, 8—10°С, 16—18°С. Данные, подтвержденные актами дегустации, представлены в табл. 18, 19, 20.

Они свидетельствуют о том, что жесткость вареного мяса снижается по мере увеличения продолжительности процесса созревания при 0°С. При этом в течение первых двух суток хранения мясо I сорта остается еще довольно жестким. Мясо II сорта жестко и на четвертые сутки созревания полутуши. На шестые сутки нежность мяса вновь весьма существенно увеличивается и достигает максимума на 10-е сутки. При дальнейшем увеличении продолжительности созревания до 14 суток нежность мяса после варки, хотя несколько и увеличивается, но мясо становится суховатым, недостаточно сочным.

Интересно отметить такой факт: мясо II сорта до конца вторых суток созревания включительно более мягкое, чем мясо I сорта той же туши, в то время как после четырех-шести суток хранения вареное мясо II сорта становится более жестким, чем мясо I сорта. По нашему мнению, это указывает на исключительную роль полноценных структурных белков мышечной ткани в увеличении жесткости мяса в процессе развития послеубойного окоченения.

Одновременно с увеличением нежности наблюдается также улучшение вкусовых и ароматических свойств мяса и получен-

Продолжительность созревания при 0°, сутки	Мясо I сорта		Мясо II сорта	
	мякотная часть	бульон	мякотная часть	бульон
Парное	Неароматная, безвкусная, несочная, жесткая	Неароматный, безвкусный, часто мутный или мутноватый	Неароматная, безвкусная, но мягче, чем парное мясо I сорта	Неароматный, безвкусный, мутный
1	То же, но нежнее, чем парное	Маловароматный, безвкусный, мутный или мутноватый	То же, но нежнее, чем мясо I сорта после 1 суток созревания и парное мясо II сорта	Неароматный, безвкусный, мутный
2	Маловароматная, недостаточно нежная. Ароматнее и мягче, чем после 1 суток созревания	Несколько более ароматный и вкусный, чем после 1 суток созревания. Мутноватый, в одном образце прозрачный	Маловароматная, довольно нежная, но нежнее, чем мясо I сорта после 2 суток созревания	Слабовароматный, довольно вкусный, мутноватый
4	Довольно ароматная, вкусная, нежнее, чем после 2 суток созревания, но недостаточно сочная, жестковатая	Довольно ароматный и вкусный (концентрированный), прозрачный, в одном образце мутноватый	Ароматная, вкусная, но довольно жесткая	Довольно ароматный и вкусный (концентрированный), прозрачный

Продолжение табл. 18

Продолжительность созревания при 0°, сутки	Мясо I сорта		Мясо II сорта	
	мякотная часть	бульон	мякотная часть	бульон
6	Ароматная, вкусная, сочная, нежная, в некоторых случаях нежного жестковатая	Ароматный и вкусный (концентрированный), в одном образце мутноватый	Ароматная, вкусная, сочная, нежная, но более жесткая, чем мясо I сорта после 6 суток созревания	Ароматный и вкусный (концентрированный), мутноватый
10	Ароматная, наиболее вкусная из всех образцов, очень нежная	Очень ароматный и вкусный (очень концентрированный), прозрачный	Ароматная, вкусная, довольно сочная, нежная	Ароматный и вкусный (концентрированный), мутный
14	Ароматная, менее вкусная, чем после 10 суток созревания, нежная, но суховатая	Очень ароматный и вкусный, более концентрированный, чем через 10 суток созревания, прозрачный	Менее ароматная, чем через 10 суток созревания; в двух случаях из четырех отмечен незначительный специфический привкус клевого бульона. Нежная, но суховатая	Сильно концентрированный, с небольшим запахом и привкусом клевого бульона, мутный

Таблица 19

Продолжительность созревания при +8°С, сутки	Мясо I сорта		Мясо II сорта	
	мякотная часть	бульон	мякотная часть	бульон
Парное	Неароматная, безвкусная, несочная, жесткая	Неароматный, безвкусный, мутноватый	Неароматная, безвкусная, жесткая	Неароматный, безвкусный, мутный
1	Малороматная, несочная, жестковатая	Малороматный, более вкусный, чем в предыдущем образце, мутноватый (в одном случае прозрачный)	Малороматная, жестковатая, но нежная, чем мясо I сорта после 1 суток созревания	Малороматный, более вкусный, чем в предыдущем образце. Прозрачный
2	Жестковатая, но более ароматная, сочная и нежная, чем через 1 сутки созревания	Ароматный и вкусный, прозрачный	Жестковатая, но более ароматная, вкусная и нежная, чем через 1 сутки созревания	Ароматный и вкусный, мутноватый
4	Более ароматная, вкусная, сочная и нежная, чем через 2 суток созревания	Более ароматный и вкусный, чем через 2 суток созревания, мутноватый	Ароматная, вкусная и нежная	Ароматный и вкусный (концентрированный), мутноватый
6	Наиболее ароматная, вкусная, сочная и нежная, из всех образцов	Наиболее ароматный и вкусный из всех образцов, мутноватый	Очень ароматная, вкусная, сочная и нежная	Ароматный и вкусный, но с незначительным запахом и привкусом клея в некоторых образцах

Таблица 20

Продолжительность созревания, сутки	Мясо I сорта		Мясо II сорта	
	мякотная часть	бульон	мякотная часть	бульон
Парное	Неароматная, безвкусная, жесткая	Малороматный, безвкусный, мутный	Неароматная, безвкусная, жесткая, но несколько нежнее, чем парное мясо I сорта	Неароматный, безвкусный, мутный. В одном случае из трех зажелировал
1	Более ароматная, вкусная, сочная и нежная, чем в предыдущем образце	Более ароматный и вкусный, чем в предыдущем образце. Прозрачный	Более ароматная, вкусная, сочная и нежная, чем в предыдущем образце	Более ароматный и вкусный, чем в предыдущем образце, мутный. В одном случае из трех зажелировал
2	Ароматная, вкусная, сочная и нежная	Более ароматный и вкусный, чем через 1 сутки созревания. Прозрачный	Ароматная, вкусная, сочная и нежная	Ароматный и вкусный, мутноватый. В одном случае из трех зажелировал
4	Ароматная. Более нежная, но менее сочная, чем через 2 суток созревания	Наиболее ароматный и вкусный (концентрированный), мутноватый	Ароматная, нежная, но менее сочная, чем через 2 суток созревания	Ароматный и вкусный (концентрированный), мутноватый. В одном случае из трех незначительный запах и привкус клея. Зажелировал

ного из него бульона вплоть до 10—14-х суток хранения. На 14-сутки в некоторых образцах мяса II сорта отмечается незначительный специфический привкус клевого бульона, указывающий на нецелесообразность дальнейшего увеличения продолжительности хранения. После этого мясо становится перзревшим и отчетливо проступают признаки старения.

Интересно также отметить, что бульон из мяса I сорта бывает мутноватым, если для его приготовления использовано парное мясо или мясо через 1—2 суток после убоя. При дальнейшем увеличении продолжительности созревания из мяса I сорта почти всегда получается прозрачный бульон. В отличие от этого бульон из мяса II сорта, как правило, бывает прозрачным только на четвертые сутки созревания и при увеличении продолжительности этого процесса до 14 суток мутность progressively увеличивается.

В процессе созревания при 8—10°С органолептические изменения остаются такими же. Однако они протекают в более сжатые сроки и поэтому уже на 4-е сутки наблюдалось значительное улучшение консистенции мяса. Оно достигало своего максимума на 6-е сутки. При 8 и 10°С, так же как и в процессе созревания при 0°С, продолжительность созревания оказывает существенное влияние на вкусовые и ароматические свойства мяса и бульона, но в данном случае эти изменения протекают значительно быстрее. В результате этого уже на 4-е сутки мясо становится ароматным и вкусным, а бульон — насыщенным и концентрированным, а на 6-е сутки мясо I сорта и полученный из него бульон наиболее вкусны и ароматны. На 6-е сутки созревания бульон из мяса II сорта в некоторых случаях приобретает незначительный специфический запах и привкус клея. Еще более интенсивно указанные процессы протекают, когда созревание проводится при температуре 16—18°С. В этом случае уже через 2 суток после убоя мясо I и II сортов становится нежным, сочным, вкусным и ароматным. На 4-е сутки мясо становится еще более нежным, но недостаточно сочным. На 4-е сутки вкус и аромат мяса I сорта при варке также улучшаются, бульон из него бывает очень насыщенным и ароматным. Однако к этому сроку в бульоне, полученном при варке некоторых образцов мяса II сорта, появляются незначительный специфический запах и привкус клея.

Следует также отметить, что из мяса I сорта, хранившегося при 16—18°С в течение 1—2 суток, при варке получается прозрачный бульон, а из мяса II сорта, независимо от продолжительности хранения, бульон всегда бывает мутный или мутноватый.

По результатам проведенных работ можно сделать такое заключение: состояние околечения может быть обнаружено через 2 суток хранения мяса при 0° и при 8—10°С или через сутки

при 16—18°С. Мясо шестисуточного хранения при 8—10°С или четырехсуточного хранения при 16—18°С приближается по своим органолептическим свойствам к мясу, хранившемуся две недели при 0°С. Эти сроки хранения являются максимальными и дальнейшее их увеличение приводит к получению перзревшего мяса. Для него характерно наличие, особенно в мясе II сорта, специфического запаха и привкуса клевого бульона и недостаточная сочность. Процесс созревания мяса при низких положительных температурах крайних длительностей. Продолжительная выдержка мяса во время созревания при низких температурах — дорогостоящая технологическая операция, экономически малоэффективная (требуется специальное оборудование и холодильные площади, высок процент усушки, необходима зачистка). Поэтому внимание исследователей было обращено на изучение способов интенсификации созревания, что возможно только на основе углубленного изучения сущности биохимических процессов, обуславливающих желательные изменения, и научного обоснования вопроса об оптимальных условиях и сроках созревания мяса в широких промышленных масштабах.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Весьма немногочисленны исследования о роли микроорганизмов в процессе созревания мяса.

Примененный Гаммом метод [108] хотя и не давал возможности точно вычислить количество микроорганизмов, но позволил установить настолько незначительную обсемененность мяса и после 10-дневного хранения в подвешенном состоянии, что бактериальное влияние можно не принимать в расчет. Обусловленный процессом убоя обсемененность парного мяса сокращалась при хранении и через 3—4 дня была минимальной.

С этого момента можно было наблюдать медленное увеличение количества микроорганизмов. К аналогичному выводу пришли Пауль и сотрудники [152].

В табл. 21 суммированы полученные лабораторией антибиотиков ВНИИМП данные о микробиологическом состоянии обработанного с поверхности антибиотиками мяса после его шестисуточного созревания при 8—10°С.

Приведенные в табл. 21 результаты микробиологических анализов показывают, что во всех случаях в процессе созревания глубинные слои мышечной ткани оставались стерильными.

Следовательно, микробиологический фактор не влияет на процесс созревания.

Однако даже обработанные антибиотиками мясные полутуши при 8—10°С могут храниться максимально 6 суток.

Таблица 21

Микробиологические показатели	Номер опыта		
	II	IV	V
Поверхность мясной туши:			
Общая обсемененность на 1 см ² поверхности	41,7 тыс.	4,85 тыс.	77,0 тыс.
Протей	Присутствует	Отсутствует	Отсутствует
Грама-отрицательные палочки	»	»	»
Плесени	Отсутствуют	»	»
Дрожжи	»	»	»
Глубинные слои мышц	Мясо стерильное	Мясо стерильное	Мясо стерильное

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Процессы автолиза приводят к изменению ряда физико-химических свойств мяса и водных экстрактов из него.

Смординцев [52] приводит результаты своих многочисленных исследований об изменении pH, буферной емкости, поверхностного натяжения, вязкости, температуры замерзания, электропроводности водных вытяжек из мяса и набухаемости мяса в растворах NaCl и CaCl₂.

Головкин [8] изучил изменения электросопротивления мышц в процессе хранения охлажденного мяса. При этом им было установлено, что в первые двое суток хранения при 0 ÷ +2°С наблюдается резкое падение электросопротивления, которое продолжается, хотя и в несколько замедленном темпе, вплоть до 14 суток хранения. Следовательно, при этом мышечная ткань претерпевает существенные структурные изменения, связанные с биохимическими процессами.

Автор делает вывод, что измерение электросопротивления может служить критерием качественного состояния мяса.

Динамика изменений pH в процессе созревания мяса изучена многими авторами. Величина pH, лежащая вначале между 6,0 и 7,0, значительно падает в течение первых часов после убоя, при околении проходит через минимум, который лежит между

5,4 и 5,6, а затем при дальнейшем хранении начинает медленно возрастать (рис. 38).

Вербицкий и сотрудники [178] считают это увеличение результатом автолитических, а не микробиологических процессов.

По данным Вербицкого, Кункля и других [179] максимальное изменение pH между 3 и 13 днями после убоя составляет 0,24 единицы, а минимальное — 0,04. Средняя величина сдвига pH в щелочную сторону на 13-й день составляет 0,11 единицы по сравнению с его значением на 3-й день после убоя.

Гамм [108] отмечает, что наиболее точные результаты получаются при измерении pH в измельченном материале. Если не производить большого числа замеров, то при измерениях pH в неизмельченной мышце могут возникнуть существенные различия в величинах этого показателя. Они будут зависеть от того, где (на поверхности или в глубине ткани) производится измерение. Лоурн [130] на примере мышц лошади показал, что pH мышц понижается от поверхности к внутренним слоям.

Установлено [117, 118] отсутствие всякой корреляции между увеличением нежности при созревании и содержанием молочной кислоты и неорганического фосфора.

Гамм [108] изучал при помощи пресс-метода изменения гидратации мяса при его хранении и влияние различных факторов на величину этого показателя. Результаты этого исследования графически изображены на рис. 39.

В опытах автора [108], когда к мясному фаршу совсем не добавляли воду или вводили ее в сравнительно небольших количествах, через сутки (самое позднее через 2 суток) хранения мяса отмечался отчетливо выраженный минимум гидратации.

По достижении этого минимума при дальнейшем созревании водосвязывающая способность снова медленно возрастает.

Нинниваара и Ринненен [148] сообщили, что влагопоглощаемость достигает первоначальной величины через 6—8 дней после убоя. Однако, как видно из представленных на рис. 39 графиков, в опытах Гамма [108] гидратация мяса и после десятидневного хранения далеко не достигала величины, характерной для парного мяса, но была выше степени гидратации через 2 дня хранения. Практические наблюдения в основном подтверждают выводы Гамма.

На рис. 40 приведены средние (из шести серий опытов) данные об изменениях количества связанной воды в процессе созревания мяса при 8—10°С [63].

Как видно, 76—90% содержащейся в парном мясе влаги находится в связанном состоянии.

В процессе созревания эта величина изменяется, имея отчетливо выраженный минимум, отмеченный по наблюдавшимся срокам на вторые сутки хранения.

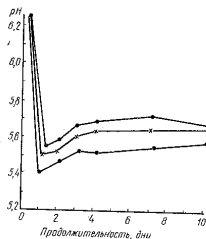


Рис. 38. Изменения величины pH в процессе созревания мяса при низких положительных температурах (Гамм).

К этому моменту количество связанной воды составляет в среднем около 58% от общего содержания влаги в мясе. По мере

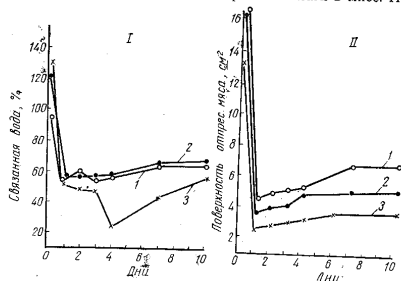


Рис. 39. Изменения гидратации и нежности мяса в процессе его послеубойного хранения при 2° С (Гамм):

I — гидратация; II — нежность. Добавление к измельченной мышце воды: 1 — 20%; 2 — 50%; 3 — 100%.

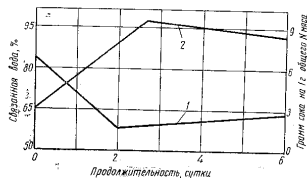


Рис. 40. Изменения содержания связанной воды и количества отпрессованного из мяса сока в процессе созревания при 8—10° С:

1 — связанная вода; 2 — отпрессованный из мяса сок (Соловьев и сотрудники).

ре дальнейшего увеличения сроков хранения оно увеличивается, достигая к шестым суткам в среднем 64%. Если принять содержание связанной воды в парном мясе за 100%, то ко 2-м суткам

хранения эта величина уменьшается в среднем до 69%, а к 6-м — увеличивается до 77%.

Рис. 40 дает также картину изменений количества отпрессованного сока (свободной воды) в процессе созревания мяса при 8—10° [63]. Результаты выражены в граммах отпрессованного сока на 1 г общего азота мяса. Поскольку количество отпрессованного из мяса сока характеризует содержание свободной воды, то изменения этого показателя прямо противоположны изменениям в содержании связанной воды.

Другие авторы [179] определяли степень гидратации мяса по количеству сока, выделяющегося при его варке (рис. 41) (гидратация белков является величиной обратно пропорциональной потерям сока при варке мяса).

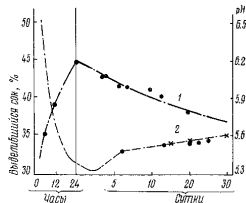


Рис. 41. Зависимость между количеством выделяющегося при варке мяса сока и величиной pH на различных стадиях созревания мяса (Вербинский и сотрудники):

1 — количество выделяющегося сока, %; 2 — pH.

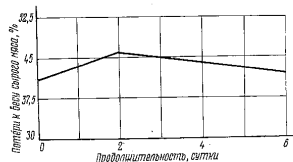


Рис. 42. Потери веса мяса при варке в зависимости от продолжительности процесса созревания при температуре 8—10° С (Соловьев и сотрудники).

На рис. 41 показано, что в течение первых 24 ч потери сока при варке быстро возрастают до максимума, а затем, во II фазе созревания, постепенно уменьшаются и на 30-й день достигают величин, наблюдаемой через 2—3 ч после убоя.

Вычисленные авторами коэффициенты корреляции указывают на то, что количество выделяющегося сока обратно пропорционально нежности как на 3-й, так и на 13-й день созревания.

На рис. 42 представлены средние данные об изменениях весовых потерь мяса при варке в зависимости от продолжительности созревания при температуре $8-10^{\circ}\text{C}$ [68].

Итак, минимальные потери, которые наблюдались у парного мяса, составляли в среднем 40,9%; самые большие потери веса мяса при варке наблюдаются в период посмертного окоченения. Этот минимум можно еще уловить после двухсуточного хранения мяса при $8-10^{\circ}\text{C}$. В этом случае весовые потери ко-



Рис. 43. Изменения нежности сырого мяса, определяемой методом прессования, в процессе созревания при $8-10^{\circ}\text{C}$ (Соловьев и сотрудники).

леблются в разных опытах в пределах от 41,4 до 49,3%, составляя в среднем 45,6%. По мере увеличения продолжительности созревания потери веса мяса при варке систематически уменьшаются, достигая к шестым суткам в среднем 42,2%. Такое явление установлено во всех выполненных нами опытах.

Большой интерес представляют данные [63, 65] об изменениях нежности сырого мяса (площади пленки, полученной после прессования мяса) в зависимости от продолжительности процесса созревания. Как видно из рис. 43, нежность сырого мяса максимальна непосредственно после убоя животного. Через 2 суток хранения она значительно уменьшилась, достигнув в среднем 74% по отношению к величине показателя для парного мяса. На 6-е сутки хранения площадь пленки, характеризующая степень нежности, вновь увеличивается в среднем до 83% величины, свойственной парному мясу.

Измерение усилий резания вдоль волокон на приборе Вернера — Братцлера показало [19], что изменения нежности сырого мяса, характеризующиеся этой величиной, хотя и невелики, имеют ту же тенденцию: нежность мяса уменьшается при двухсуточном хранении и увеличивается по мере созревания мяса.

Изменения сопротивления резанию вдоль волокон в процессе созревания мяса при температуре $8-10^{\circ}\text{C}$ показаны в табл. 22.

Между тем жесткостью парного мяса, подвергнутого тепловой обработке, почти равна жесткости вареного двухсуточного.

Таблица 22

Мясо	Усилия резания, кг	
	сырое мясо	вареное мясо
Парное	0,91	1,40
Двухсуточное	0,97	1,37
Шестисуточное	0,90	1,07

Это можно объяснить наступлением теплового окоченения парного мяса при варке, подтверждением чего является органолептическая характеристика нежности мяса, так как при созревании мяса изменения нежности, количества выделяющегося при варке сока и содержания связанной воды протекают параллельно, то очевидно имеется взаимозависимость между этими факторами.

Авторы [108, 179] пришли к выводу, что послеубойное увеличение pH полностью не может объяснить усиления влагопоглощаемости мяса, обусловленного созреванием.

Как видно из рис. 44, по мере увеличения продолжительности созревания зависимость гидратации мяса от pH уменьшается (опыты производились с добавлением 20% воды к фаршу). Следовательно, кроме величины pH, на усиление гидратации мяса оказывают влияние другие факторы.

Сморodinцев [52] установил такую закономерность в процессе созревания: буферная емкость экстрактов из мяса по щелочи остается почти неизменной, а у буферной емкости по кислоте имеются два крутых подъема — через 1 и 10 суток. Это свидетельствует о значительном освобождении оснований в указанные сроки.

Гамм [110] исследовал буферную емкость белковых и безбелковых (после осаждения белков трихлоруксусной кислотой) экстрактов мяса на различных стадиях процесса его созревания при 2°C . Выполненные автором эксперименты и вычисления позволили установить, что в парном мясе приблизительно 80% общей буферной емкости при pH 7,0 падает на белки. В том числе 75% белкового буферного действия обусловлено структурными белками и 25% — водорастворимыми. Из полученных кривых титрования автор сделал вывод: белковая буферная емкость ткани определяется не только количеством заряженных групп белка, но и пространственной структурой последнего.

В течение первых 24 ч после убоя буферная емкость мышцы при pH < 5 возрастает вследствие образования молочной кис-

лоты, тогда как при величинах $pH > 6,0$ она сокращается. Это сокращение вызвано уплотнением мышечной структуры во время наступления посмертного окоченения, сопровождающимся сокращением доступных основных и кислотных заряженных групп в белковой молекуле.

Через 24 ч после убоя (в состоянии посмертного окоченения) только 50% буферного действия при $pH 7,0$ приходится на бе-

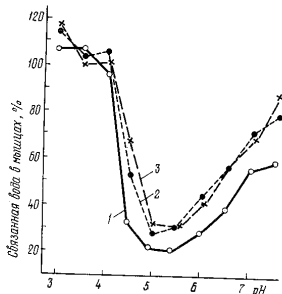


Рис. 44. Изменения гидратации в зависимости от pH в течение 7 дней хранения мяса (Гамм):

1 — 1 день после убоя; 2 — 4 дня после убоя; 3 — 7 дней после убоя.

лок. В том числе 80% белкового буферного действия обусловлено структурными белками.

По заключению автора уже через 2 ч после убоя (когда pH снижается ниже 7,0) карбонатная буферная система не играет существенной роли, так как при $pH 6,0$ наблюдается минимум буферной емкости. Увеличение буферной емкости безбелковых экстрактов при $pH > 6,0$ в течение 24 ч после убоя относится исключительно за счет увеличения количества неорганического ортофосфата. Это находится в соответствии с данными Бейт-Смита [84], согласно которым буферная емкость безбелкового экстракта мяса при $pH 7,0$ распределяется между отдельными органическими и неорганическими экстрактивными веществами следующим образом (в %): фосфаты — 67,0; карнозин — 24,0; молочная кислота — 2,0; неидентифицированные вещества — 7,0.

В результате выполненных опытов Гамм [110] выдвинул гипотезу: в процессе созревания мяса в течение 9 дней вследствие протеолиза происходит освобождение основных и кислотных групп белка, на что указывает происходящее при этом усиление буферного действия при высоких (7,5) и низких (3,0) величинах pH . Автор полагает, что усиление буферной способности безбелковых экстрактов в процессе созревания мяса обусловлено образованием свободных аминокислот и низших пептидов.

Много внимания уделялось также изучению изменений количества свободных и связанных с белками катионов в процессе

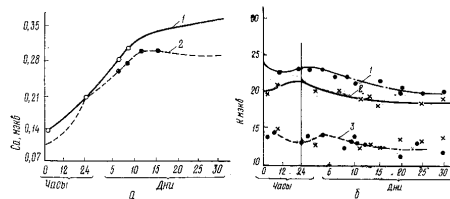


Рис. 45. Изменения количества диссоциированных Са и К в процессе созревания мяса (Вербичкий и Детерейдж):

а — содержание Са в соке, выделяющемся при варке мяса: 1 — на 100 мл сока; 2 — на 10 г общего азота; б — содержание К в водном экстракте и соке, выделяющемся при варке мяса: 1, 3 — К в 1 л водного экстракта двух отрубов мяса; 2 — К в 100 мл сока мяса.

созревания мяса [13, 43, 49, 68, 81, 105, 111]. Большинство исследований установлено, что сразу после убоя в мышцах содержится очень мало диссоциированных Са и Zn, но степень диссоциации Mg достигает 60%. В последующие 2—4 суток значительная часть Са, Mg и Zn переходит из связанного состояния в диссоциированное, или слабосвязанное. При этом наблюдается увеличение свободного Са в 4—5 раз и Mg более чем в 2 раза [13].

В течение последующих 5—10 суток хранения мяса количество диссоциированных Са и Na продолжает увеличиваться, о чем можно судить по их возрастанию как в водном экстракте, так и в соке, полученном после тепловой обработки мяса (рис. 45). В этом периоде количества водорастворимых Mg и Zn не изменяются.

Железо в течение семи суток созревания находится только в связанной форме (111).

В опытах, выполненных Головкиным [13], хранение мяса при 0 и 2° С до 14—15 суток приводило к снижению свободных катионов Са и Mg. Следовательно, отмеченная выше закономерность не является всеобщей и динамика этих показателей может меняться в зависимости от факторов, не учтенных в опытах (например, состояние животных перед убоем, степень их упитанности и др.).

В первой главе нами уже отмечалось, что Са в основном связывается актином.

Однако продолжающийся при расслаблении окоченения переход кальция в экстракт не связан с его освобождением из актина.

Как показали опыты Фуджимак и Аракава [105], содержание Са и других щелочноземельных металлов в активе является минимальным через 1—2 суток после убоя, т. е. в период, когда мясо находится в состоянии окоченения. По мере увеличения продолжительности созревания до 8 суток и усиления происходящего при этом процесса улучшения консистенции мяса количество этих металлов в активе вновь возрастает, хотя и не достигает исходной величины, характерной для парного мяса. Содержание щелочноземельных металлов в активе, выделенном из мышц кролика на разных этапах процесса созревания, по данным Фуджимак и Аракава [105] (в молях на 57 000 г белка), приведено в табл. 23.

Таблица 23

Продолжительность созревания, сутки	Общее количество щелочноземельных металлов, моль	Са, моль
0	4,62	2,83
1	3,65	1,17
2	3,01	0,93
4	3,66	1,23
8	3,96	1,33

Таким образом, в период расслабления окоченения в ряде случаев может иметь место одновременный переход кальция в экстракт и связывание некоторого его количества актином. Возможно это объясняется действием других источников образования водорастворимого кальция, о чем нами будет сказано ниже. Вербичий и Детерейдж [81] наблюдали постепенное уменьшение количества ионов К в водном экстракте и в соке на протяжении всего периода созревания между третьими и тринадцатыми сутками хранения мяса. Это указывает на связывание калия мышечными белками (см. рис. 46). Связываемое белками количество ионов калия во много раз больше количества ионов

кальция, появляющегося в водном экстракте и соке. Таким образом, во второй фазе процесса созревания, т. е. при расслаблении окоченения, общий сдвиг в количестве катионов свидетельствует о их связывании белками мяса. В результате перемещения ионов белки становятся заряженными более положительно.

По мнению авторов, это изменение электрического заряда белков обуславливает изменение гидратации и нежности мяса.

Данные Шермана [159, 160], а также Александра и Джонсона [80] подтверждают эту точку зрения. Согласно их гипотезе адсорбция анионов и катионов белками мяса, особенно актомиозином, ведет к уменьшению внутренних сил притяжения между противоположно заряженными группами белковой молекулы. В связи с этим в процессе созревания наблюдается увеличение гидратации мяса. Поэтому величина набухания белковой сетки зависит от концентрации адсорбированных ионов.

Была также изучена динамика общего содержания кальция в мышечной ткани [68] в процессе созревания мяса при 8—10° С (табл. 24).

Таблица 24

№ опыта	Мясо	Содержание кальция в мышечной ткани		
		Мкмоль на 100 г	Са · 100 общий азот	% к Са парного мяса
I	Парное	70	89	100
	Двухсуточное	74	92	103
	Шестисуточное	89	106	119
II	Парное	63	78	100
	Двухсуточное	68	83	106
	Шестисуточное	74	94	121
III	Парное	56	65	100
	Двухсуточное	76	86	132
	Шестисуточное	69	84	129
IV	Парное	58	68	100
	Двухсуточное	65	72	106
	Шестисуточное	63	74	109
V	Парное	51	64	100
	Двухсуточное	58	70	109
	Шестисуточное	61	74	116
Среднее из 5 опытов	Парное	60	73	100
	Двухсуточное	68	81	111
	Шестисуточное	71	86	118

Как видно из данных таблицы, общее содержание кальция в мышечной ткани во всех пяти выполненных опытах в процессе созревания увеличивается. Если общее содержание кальция в парном мясе принять за 100%, то через двое суток хранения мяса при 8—10°С оно в разных опытах составляет 103 — 109%, или в среднем по четырем опытам 105%. Исключение составил третий опыт, когда величина этого показателя уже через двое суток поднялась до 132%. С учетом результатов этого опыта среднее содержание кальция в мясе через 2 суток хранения при 8—10°С составляет 111%. При увеличении продолжительности созревания до 6 суток общее содержание кальция в мясе еще больше увеличивается и составляет в среднем 118% к его содержанию в парном мясе.

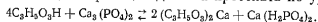
Для исключения влияния усушки и различного содержания жира в различных пробах, в табл. 24 содержание Са в мышечной ткани вычислено также в процентах к общему азоту мяса. Приведенные в главе 9 данные о точности метода определения Са свидетельствуют о том, что наблюдаемый прирост содержания Са во много раз превосходит ошибку метода.

Можно предположить, что растворение молочной кислотой кальциевых солей, содержащихся в том или другом виде соединительной ткани и их последующая постепенная диффузия в мышечную ткань, являются причиной увеличения в ней общего количества Са.

Так, например, по данным Широкова и сотрудников [76], хрящевая ткань содержит в 5—6 раз больше кальция, чем мышечная. Следовательно, она может рассматриваться как возможный источник повышения содержания кальция в мышечной ткани.

Учитывая растворимость кальциевых солей фосфорной и молочной кислот, а также их константы диссоциации, есть основания считать, что молочная кислота, взаимодействуя с трикальцийфосфатом, будет разлагать его, превращая в кислую соль. Но в результате этого процесса не может образоваться свободная фосфорная кислота, так как K_1 диссоциации H_2PO_4 больше, чем K диссоциации молочной кислоты, и $Ca(H_2PO_4)_2$ имеет минимальную (по сравнению с другими фосфатами кальция) растворимость.

Следовательно, эта реакция должна протекать по уравнению



Образующийся более легко растворимый молочнокислый кальций диффундирует в мышечную ткань, благодаря чему в ней увеличивается общее содержание кальция в процессе созревания мяса.

При рассмотрении вопроса о взаимодействии белков мышечных волокон с ионами необходимо учитывать данные Бодлера

[91]. Он установил, что экстрагированные глицерином мышечные волокна содержат в среднем 0,58 *мкмоль* кальция на 1 *кг* мускула. Белки мышечных волокон принимают на себя дополнительные количества кальция и магния из разбавленных растворов солей этих металлов. Однако в растворах, содержащих кальциевые соли, этот избыток заменяется на ионы калия. Автор делает вывод, что даже самое незначительное увеличение концентрации солей Са приводит к весьма существенному изменению физико-химических свойств мышечных волокон.

В связи с этим приводим полученные нами еще в 1952 г. данные о влиянии солей кальция на нежность мяса. Для опытов служили стройная, приводящая и длиннейшая спинная мышцы коров в возрасте 6—7 лет.

В куски мяса весом 230 г вводили путем шприцевания по 23 *мл* 0,1%-ного или 1%-ного раствора $CaCl_2$, затем мясо выдерживали в течение 1 суток при 0—6°С или при 17°С, после чего помещали в герметически закрываемые банки и варили в течение 2 ч при 90°. После охлаждения мясо подвергали органолептической оценке дегустационной комиссией. Таким путем устанавливали, какое влияние на консистенцию созревающего мяса оказывает добавление минеральных солей. Установлено, что при добавлении 3,5 *мг* Са на 100 г мяса (минимальная испытывавшаяся доза) через 1 сутки хранения при 17°С мясо становилось более нежным и сочным по сравнению с контрольными образцами (без солей кальция). Аналогичное действие оказывают и соли магния.

Эти данные подтверждены результатами опытов Вербицкого, Кохилла и Детерейджа [180].

Реакцию между белком и ионами металлов можно выразить уравнением

При увеличении концентрации ионов в тканевом соке за счет разложения молочной кислотой содержащихся в соединительной ткани фосфатов кальция и превращения их в растворимый молочнокислый кальций равновесие будет сдвигаться направо, т. е. в сторону образования протеинатов.

В соответствии с приведенными данными Бодлера [91] при этом в первую очередь будет связываться с белком не кальций, а калий. Это полностью согласуется с данными Вербицкого и сотрудников [81] о связывании ионов калия структурными белками при созревании мяса, а также Фуджимаки и Аракава [105] о связывании кальция актином. Весьма вероятна связь между причинами увеличения общего количества Са и наблюдениями Бейт-Смита и Бендолла [86] и Марша [137] о том, что изолированная мышца при хранении в течение 7 дней при 7°С лишь в очень незначительной степени увеличивает свою растяжимость.

В то же время в неповрежденной цельной мышце, находящейся в туше исследуемого животного, происходит более полное разрешение окования, сопровождающееся значительным увеличением растяжимости мышцы.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЖНОСТИ МЯСА

ИЗМЕНЕНИЯ В БЕЛКОВОЙ СИСТЕМЕ МЯСА В ЦЕЛОМ

В литературе высказывают различные точки зрения и приводят много данных о причинах, вызывающих улучшение консистенции мяса во второй фазе созревания (т. е. в процессе расслабления посмертного окования). Однако они крайне противоречивы. До сих пор не удалось доказать, что в процессе созревания мяса увеличивается общее количество экстрактивных веществ и появляются полипептиды [52, 42]. Также не найдена зависимость между увеличением в процессе созревания нежности мяса и количеством азота растворимого в трихлоруксусной кислоте, а также азота водорастворимых белков, которые коагулируют при нагревании [114, 117, 118]. Однако это не может служить доказательством отсутствия изменений в белковой системе мяса или её стабилизации в процессе созревания. Из этих результатов был сделан вывод [68, 85, 108, 129], что применявшиеся указанными выше авторами методы исследования недостаточно чувствительны для того, чтобы обнаружить ту тонкую разницу в состоянии белковых веществ, от которой зависит изменение нежности.

Многие авторы также изучали изменения аминного и небелкового азота при созревании мяса. Как известно, эти формы азота характеризуют интенсивность распада белковых веществ при воздействии на них протеолитических ферментов. В качестве примера в табл. 25 приведены данные Локкера [134] об изменении небелкового и аминного азота на 1 г мышечной ткани в процессе созревания мяса при 2° С.

Таблица 25

Продолжительность созревания, сутки	Азот, мкг/г	
	аминный	небелковый
0	53,5	280,5
2	51,0	273,0
8	58,5	295,7
14	65,0	300,2

Как видно из этой таблицы, увеличение содержания конечных продуктов распада белковых веществ не обнаруживается

в мясе при помощи этих методов в течение первых двух суток созревания.

В табл. 26 отражены изменения количества небелкового азота в процессе созревания мяса при 8—10° С в % к общему азоту мяса [63, 65].

Таблица 26

Продолжительность созревания, сутки	Небелковый азот в % к общему азоту мяса в опытах			Среднее из трех опытов
	2	3	4	
Парное	5,82	5,59	5,29	5,56
2	5,54	5,58	6,70	5,94
6	6,43	5,97	6,71	6,37
Прирост в шестисуточном мясе по сравнению с парным, %	10,50	6,80	26,80	14,60

Как видно, в течение первых двух суток они незначительны. Однако к концу 6-х суток созревания изменения становятся более существенными и свидетельствуют о возможности глубоких протеолитических процессов на данной стадии созревания. Эти данные подтверждаются результатами работ многих авторов.

Изменения содержания свободных аминокислот в мясе различной степени зрелости изучались многими исследователями [3, 15, 63, 75, 93, 100, 106, 134, 146, 147]. Однако в настоящее время еще нет достаточно достоверных данных об их количественных изменениях при созревании мяса. Причиной являлось отсутствие до последнего времени хорошо отработанных методов их разделения и количественного определения при помощи хроматографии и большинство авторов ограничивалось визуальной оценкой их изменений. В результате этого данные различных авторов не всегда совпадали. Все же по большинству наблюдений можно сделать некоторые предварительные обобщения. В парном мясе, как правило, отсутствуют тирозин и фенилаланин [15, 63, 100, 146, 147], а треонин [3, 15, 63, 146, 147] и аспарагиновая кислота [15, 100, 146, 147] присутствуют в нем в виде следов или в незначительных количествах.

В процессе созревания в мясном экстракте появляются тирозин [15, 63, 100], фенилаланин [15, 63, 100, 146, 147], треонин [63, 146, 147], триптофан [146, 147]. Наиболее значительно накопление глутаминовой кислоты [3, 75, 100, 146, 147, 63, 15], аргинина [75, 100, 106], лейцина [75, 106, 146, 147], валина [146, 147], триптофана [93]. О содержании свободного триптофана в мясе Даль [93] приводит следующие данные: через 1 сутки после убоя животного в мясе содержится около 1,0% к общему его количеству в белках мяса, а через 16 и 22 суток хранения — со-

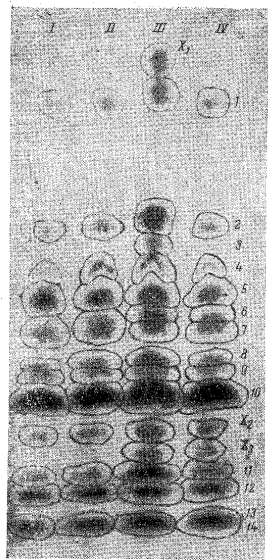


Рис. 46. Хроматограмма свободных аминокислот, выделенных из экстрактов (Соловьев и сотрудники):

I — парное мясо; II — 2 суток; III — после 2 суток созревания и последующей обработки лимоником; IV — после 6 суток созревания; 1 — цистин; 2 — лизин; 3 — гистидин; 4 — аргинин; 5 — аспарагиновая кислота; 6 — серин; 7 — глицин; 8 — глутаминовая кислота; 9 — треонин; 10 — аланин; 11 — тирозин; 12 — валин; 13 — фенилаланин; 14 — лейцин (изолейцин). X₁, X₂, X₃, X₄ — идентифицированные пятна.

ответственно 2,0 и 3,0%. Также отмечается, что на всех стадиях процесса созревания в мясном экстракте всегда присутствуют в больших количествах свободные α-аланин [100, 146, 147] и глицин [146, 147]. Изменения оксипролина в процессе созревания мяса крайне незначительны [93]. Нами также исследованы экстракты из мяса на различных стадиях его созревания [63] для определения в них наличия свободных аминокислот (рис. 46). При этом было обнаружено и идентифицировано 14 аминокислот: цистин (цистеин), лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, серин, глицин, глутаминовая кислота, треонин, аланин, тирозин, валин, фенилаланин и лейцин (изолейцин). Было также установлено, что как в экстрактах парного мяса, так и на последующих стадиях созревания всегда содержатся в значительных количествах аланин и аспарагиновая кислота. В парном мясе всегда отсутствует тирозин, а фенилаланин, гистидин и иногда треонин присутствуют в виде следов или не обнаруживаются совсем. По ме-

ре увеличения продолжительности хранения мяса количество указанных пяти аминокислот (кроме треонина) возрастает лишь незначительно. Свободные цистин (цистеин) и лизин содержатся в мясе также в небольших количествах и на всех стадиях созревания не наблюдается значительного увеличения их количества.

Наряду с этим отмечается существенное увеличение в процессе созревания мяса количества глутаминовой кислоты, треонина, серина, глицина, валина, лейцина и аргинина. Больше других возрастает количество глутаминовой кислоты и треонина. Как известно, эти аминокислоты имеют прямое отношение к вкусу мяса и аромату белковых гидролизатов [62].

Выполненные нами опыты по изучению содержания свободных аминокислот в экстрактах из мяса различной степени зрелости в основном соответствуют данным Дворжака [100], Невяровича [146, 147] и других авторов.

Весьма интересные сведения о содержании некоторых свободных и пептидосвязанных аминокислот в небелковом экстракте были получены Гингер и сотрудниками [106].

В табл. 27 приводится содержание некоторых свободных и пептидосвязанных аминокислот в небелковом экстракте из охлажденного и созревшего мяса по данным Гингер и сотрудниками [106].

Авторы исследовали по этим показателям охлажденное (2 суток после убоя) и созревшее мясо (14 суток хранения при 1,1° С).

Таблица 27

Аминокислоты	Содержание аминокислоты в экстракте в % к количеству данной аминокислоты в белках мяса			
	охлажденного		созревшего	
	до гидролиза	после гидролиза	до гидролиза	после гидролиза
Аргинин	1,30	0,90	2,10	2,00
Лейцин	0,17	0,94	0,31	2,20
Тирозин	0,43	2,30	0,96	1,30
Гистидин	2,40	26,00	2,10	25,00

Из приведенных данных следует, что в охлажденном и созревшем мясе имеются не идентифицированные до сих пор пептиды, в состав которых входят лейцин и тирозин. В процессе созревания увеличивается количество связанного в форме пептидов лейцина, что указывает на образование этих продуктов из белковых веществ путем протеолиза.

Одновременно уменьшается количество связанного в форме пептида тирозина почти в два раза. Следует также обратить внимание на увеличение при созревании мяса более чем в 2 раза общего количества как аргинина, так и лейцина, присутствующих в небелковом экстракте в свободной и пептидносвязанной формах. Величина этого показателя для гистидина и тирозина остается без изменений (или даже несколько уменьшается). Авторами были также найдены в мясе связанные формы лизина и глютаминной кислоты. Кроме того, вычислено, что, помимо карнозина, в небелковом экстракте из мяса присутствуют другие связанные формы гистидина, и пептидносвязанный гистидин не подвергается расщеплению при созревании мяса. Эти данные были дополнены Говардом и Лоури [115]. Они нашли в безбелковом экстракте из мяса связанные формы следующих аминокислот (кроме тех, которые входят в состав карнозина, ансерина и глютамина): α -аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, лейцина, валина (метионина), пролина и треонина.

Состав указанных пептидов неизвестен. Также не выяснено, какие из них содержатся в парном мясе сразу после убоя животного и какие образуются в процессе автолиза. Не установлено и их значение для органолептических свойств различных видов мяса.

Из приведенных выше данных вытекает, что как известные естественные пептиды (карнозин, ансерин, глютамин), так и имеющиеся в мясе неидентифицированные пептиды могут быть источниками образования свободных аминокислот при автолизе мышечной ткани.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ СОСТОЯНИЕ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Состояние водорастворимых белков мышечной ткани, имеющих глобулярную структуру, не может оказывать прямого непосредственного влияния на изменение консистенции мяса при его созревании. Однако изучение их превращений представляет особый интерес, так как эти белки имеют ферментативный характер и благодаря этому включаются в биохимические процессы, протекающие в мясе.

Работы [4, 129, 179] показали, что в процессе созревания лишь незначительная часть растворимых в воде белков утрачивает свою способность экстрагироваться из мышечной ткани (из парного и созревшего мяса в среднем извлекается соответственно 3,25 и 2,51 г белка на 100 г мышечной ткани) [129].

Процесс созревания мяса оказывает также лишь небольшое

влияние на растворимость белков фракции миогена в растворе сульфата аммония [129].

Однако экстрагируемость или растворимость белков иногда не может служить достаточно чувствительным критерием их изменчивости и установления причин и значения наблюдаемых явлений. Для этих целей необходимы более точные и специфические методы. Кронманн и Уинтерботтом [129] обнаружили качественную однородность кривых седиментации экстрактов парного мяса с кривыми для созревшего мяса (рис. 47).



Рис. 47. Изменения кривых седиментации водорастворимых белков в процессе созревания мяса (Кронманн и Уинтерботтом): I — мясо парное; II — мясо созревшее; III — мясо мороженое.

фракции водорастворимых белков, остающейся в растворе после высаливания $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при концентрациях меньше 1,75 М, показало, что большая часть белка, имеющего константу седиментации больше, чем 7,5 S и соответственно наибольший молекулярный вес, распадается в процессе созревания. В процессе созревания активность фермента альдолазы не изменяется [129]. Уменьшение содержания высокомолекулярных компонентов авторы [129] связывают с инактивацией дегидрогеназы молочной кислоты, фосфорилазы α и АТФ — креатинфосфорилазы. Происходящие при созревании мяса тонкие изменения в белковой структуре ферментов могут привести к приостановке процессов, в которых они участвуют. Василевский [4] изучал в процессе созревания изменения электрофоретических свойств саркоплазматических белков, извлекаемых из мышечной ткани свиной фосфатным буфером, имеющим ионную силу $\mu = 0,15$ и pH 7,4. Объектом исследова-

ния служили длиннейшие мускулы-спины, хранившиеся вне туши при 2—4°С в течение 15 суток. При этом автором было выделено пять белковых фракций, четыре из которых характеризуются разной электрофоретической подвижностью, а пятая фракция содержит белки, не обладающие этим свойством.

Вычисленные из данных Василевского [4] средние результаты представлены в табл. 28.

В ней указаны изменения в распределении белков по электрофоретическим фракциям при хранении свиного мяса.

Таблица 28

Продолжительность хранения, сутки	Белковые фракции, г на 100 мл экстракта					Общий белок, г на 100 мл экстракта
	ми-булин (I)	глобулин X (II)	миогены и миоглобин		неидентифицированные белки (V)	
			(III)	(IV)		
0	0,73	0,57	0,91	0,50	0,68	3,38
0,5	0,67	0,55	0,85	0,45	0,41	2,92
1	0,57	0,48	0,85	0,41	0,29	2,60
2	0,52	0,46	0,86	0,43	0,25	2,52
3	0,54	0,50	0,85	0,43	0,24	2,56
5	0,53	0,44	0,85	0,46	0,21	2,49
7	0,55	0,34	0,85	0,46	0,20	2,40
9	0,54	0,33	0,82	0,43	0,20	2,32
11	0,55	0,30	0,83	0,44	0,20	2,32
13	0,57	0,28	0,82	0,43	0,20	2,30
15	0,55	0,25	0,82	0,43	0,20	2,25

Им показано, что на протяжении всего процесса хранения наблюдается последовательное уменьшение в экстракте содержания белков II фракции (глобулина X). Таким образом, за 15 дней хранения их экстрагируемость из мышечной ткани уменьшается более чем в 2 раза. Эти данные находятся в соответствии с результатами исследований Дроздова и сотрудников [17], а также Кронмана и Уинтерботтома [129]. В отличие от этого экстрагируемость миоальбуминов (I фракция) и миогенов (III и IV фракции) несколько уменьшается только в течение 1—2 суток после убоя животного. В процессе окоченения (первые 2 суток после убоя) наиболее характерным изменением является резкое уменьшение экстрагируемости белков V фракции, неподвижных при электрофорезе. Изменения, претерпеваемые этими белками, протекают очень быстро и являются необратимыми.

Для приблизительного определения времени, прошедшего с момента убоя животного, автор рекомендует использовать вели-

чину отношения количества белков II фракции к количеству белков IV фракции. Эта величина больше 1,0 для мяса 3—5-суточного хранения и меньше 1,0 для мяса более длительного хранения.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ СОСТОЯНИЕ МИОФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

Эрдош (103) на мышцах кроликов впервые показал, что растворимость белков фракции миозина после прохождения точки минимума при окоченении вновь увеличивается к 48-му часу после убоя, в результате чего уменьшается степень посмертного затвердения мышц. По мнению авторов [103, 40], это является следствием освобождения актина из структуры мышечного волокна в результате автолиза. Однако экспериментального подтверждения этому положению авторы [103, 40] не дают. Следует также отметить, что опыты Эрдоша проводились на кроликах в условиях, весьма отличающихся от существующих на производстве, без определения динамики изменений растворимости актомиозина при длительном хранении при низких плюсовых температурах и выявления причин и оптимальных условий процесса. Поэтому в дальнейшем [59, 60, 61, 63, 68] это явление подверглось более детальному изучению на мышцах крупного рогатого скота.

Средние результаты выполненных опытов представлены в табл. 29. В ней показаны изменения растворимости белков фракции миозина в процессе созревания мяса при температуре 4°С.

Таблица 29

Продолжительность созревания, сутки	Количество растворившегося белка	
	г на 100 г мяса	% к исходному количеству
Парное	3,43	100,0
1/4	1,39	40,5
1/2	1,01	29,4
1	0,65	18,9
2	0,92	26,8
3	1,18	34,4
4	1,24	36,1
6	1,22	35,6
10	1,29	37,6
14	1,33	38,7

Как видно из этих данных, содержание в мясе переходящих в экстракт белков фракции миозина максимально сразу же после убоя животных (парное мясо). Уже через 6 ч после убоя отмечается отчетливо выраженный процесс перехода белков фракции

миозина в нерастворимое состояние. Этот процесс последовательно углубляется вплоть до конца первых суток хранения, когда растворимость белков фракции миозина становится минимальной, достигая 19,0% к исходной величине.

После прохождения точки минимума начинается процесс последовательного увеличения растворимости белков фракции миозина, в результате которого величина этого показателя возрастает в среднем к концу четвертых суток до 36,0% к исходной

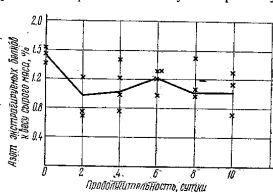


Рис. 48. Изменения азота белков, экстрагируемых солевым раствором, в процессе созревания говяжьего мяса при 4-6°С (Соловьев и сотрудники).

трагируемых солевым раствором, главным компонентом лабильной части которых являются белки фракции миозина. Результаты этих опытов иллюстрированы кривой на рис. 48. По ним можно судить, что количество солерастворимых белков является максимальным в парном мясе, т. е. сразу после убоя животного. В течение первых двух суток хранения происходит резкое снижение этой величины — до 65% к азоту солерастворимых белков парного мяса.

На четвертые сутки происходит значительное увеличение растворимости белков в солевых растворах в среднем до 73% от их содержания в парном мясе. В некоторых опытах это увеличение продолжается до 6-х суток. К концу процесса (на 8-е и 10-е сутки) в отдельных опытах наблюдается некоторое уменьшение количества этих белков в среднем до 73-74% величины характерной для парного мяса. Однако это уменьшение в значительной мере лежит в пределах ошибки опыта. Эти опыты еще более отчетливо, чем предыдущие, выявили, что процесс увеличения количества белков, экстрагируемых солевым раствором (главную лабильную часть которых составляют белки фракции миозина), заканчивается к 4-6 суткам созревания.

Результаты этих исследований неоднократно подвергались

проверке [10, 11, 12, 14, 28, 57, 134, 176], причем применительно к различным условиям эксперимента методика исследования видоизменялась.

Большинство указанных авторов, за единственным исключением [28], подтвердили правильность последовательности процесса изменений миофибриллярных белков при хранении мышечной ткани различных животных при 0°С или при низкой положительной температуре и связь этих показателей с консистенцией мяса. Так, Головкин и Першина [11] изучали динамику изменений растворимости и активности актомиозина при хранении рыб. Ими были установлены специфические особенности развития и ослабления окоченения у рыб по сравнению с теплокровными животными: в данном случае при расслаблении окоченения растворимость белков фракции миозина достигает, а иногда и превышает величину показателя для парной рыбы.

Локкер [134] изучал изменения в состоянии белков фракции миозина по их растворимости в растворе Вебера-Эдсала. Полученные им данные приведены в табл. 30. В ней показаны измене-

Таблица 30

Время после убоя, сутки	Экстрагируемость белков фракции миозина (из белка на 1 г мышечной ткани) при продолжительности экстракции, ч		
	1	2	20
Образец № 1			
При 2°С	96	—	—
0	21	—	—
2	54	—	—
8	64	—	—
14	—	—	—
При 21°С	79	—	103
3	—	—	—
Образец № 3			
При 2°С	54	56	73
0	37	38	50
2	51	—	86
8	57	76	108
При 21°С	89	94	109
3	—	—	—
Образец № 4			
При 2°С	74	72	95
0	56	72	107
2	83	85	95
8	86	93	103
14	—	—	—
При 21°С	42	67	100
3	—	—	—

ния экстрагируемости раствором Вебера-Эдсаля белков говяжьего мяса в процессе хранения при различной температуре.

Как видно из представленных данных, во всех случаях растворимость белков мышечной ткани в растворе Вебера-Эдсаля значительно возрастает во второй фазе процесса созревания. Однако применение столь длительной экстракции и раствора Вебера-Эдсаля вместо 0,6 МКСИ вряд ли является оправданным, так как

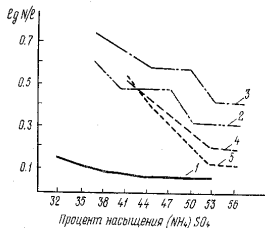


Рис. 49. Кривые высаливания сернокислым аммонием миозина В из растворов, полученных кратковременной экстракцией мышечной ткани телят (по Фуджимак и Аракава) при продолжительности созревания:

1 — 0 суток; 2 — 2 суток; 3 — 4 суток; 4 — 8 суток; 5 — 12 суток.

ется до 4 суток хранения (по наблюдавшимся срокам), а затем несколько снижается к концу хранения. Если исследуемое авторами парное мясо уже вступило в состояние окоченения, то все дальнейшие изменения находятся в соответствии с установленной выше закономерностью. Эти данные указывают также на различие свойств миозина В, выделенного из мяса на разных стадиях созревания. Стабилизация содержания азота в растворе при высаливании миозина достигается для парного мяса при 38—41% насыщения сернокислым аммонием, при 50% для мяса двухсуточного хранения и при 53% — для мяса 4—12-суточного. Таким образом, в процессе созревания миозин В становится более устойчивым к воздействию сернокислого аммония и, следовательно, при этом возможны изменения его структуры. При исследовании миозина В, полученного методом длительной экстракции, указанные различия сохранялись, но были выражены менее отчетливо.

при этих условиях не исключена возможность дополнительных изменений в состоянии белков фракции миозина.

Фуджимак и Аракава [104] изучали изменение свойств миозина кроликов, телят, коров и лошадей, изолированного из мяса на разных стадиях процесса созревания. Результаты опытов по высаливанию сернокислым аммонием растворов миозина В, полученных методом кратковременной экстракции, представлены на рис. 49.

Как видно, содержание азота миозина в растворах увеличивается

Также изучались изменения АТФазной активности миозина, выделенного на различных стадиях созревания мяса различных видов животных [11, 26, 27, 104]. Однако данные различных авторов по этому вопросу весьма противоречивы. Для мышечной ткани крупного рогатого скота отмечается некоторое снижение АТФазной активности миозина в процессе охлаждения [26, 104]. По данным Пальмина и Алехиной [30], при продолжительном хранении облученной мышечной ткани снижение АТФазной активности находится в зависимости от сроков ее хранения. Но даже через 40 суток хранения не наблюдалось полной инактивации ферментативных свойств миозина. Головкиным и Першиной [11], а также Павловским [26, 27] установлено некоторое увеличение ферментативной активности миоинозидовой АТФазы при замораживании мышечной ткани.

В процессе созревания оптимум рН АТФазной активности смещается в кислую сторону (от 7,1—7,3 до 6,2—6,7) [104].

Локкеру [134] не удалось установить качественных и количественных изменений электрофоретических свойств миофибрилярных белков в процессе двухнедельного хранения мяса при низкой плюсовой температуре. Это соответствует результатам опытов Чендера [184] по асептическому автолизу, которыми установлено появление изменений только на 20-е сутки хранения при 25°С.

Как известно, величина падения вязкости раствора актомиозина после прибавления к нему АТФ характеризует его активность, т. е. содержание актина в испытуемом актомиозине. Результаты выполненных опытов [60, 61] показывают, что после более или менее значительных колебаний в течение первых двух суток хранения мяса при 0—4°С активность актомиозина к четвертым суткам снижается до 18%, а в некоторых опытах к этому сроку она достигает даже нуля. При дальнейшем увеличении продолжительности созревания до 6—14 суток она, как правило, равна нулю. Единственным исключением является мясо шестисуточного хранения в первом опыте, в котором активность составила 33%.

Таким образом, в процессе созревания мяса не происходит образования высокоактивного экстрагируемого актомиозина. Более того, на четвертые сутки экстрагируемые белки фракции миозина находятся преимущественно в форме диссоциированной на актин и миозин, а начиная с шестых суток экстрагируемый миозин совершенно не связан с актином в комплекс. Изменения активности актомиозина в процессе созревания мяса при 0—4°С показаны в табл. 31.

Нежность при этом продолжает увеличиваться до 10—12 суток хранения. Эти данные находятся в соответствии с выводами из выполненной в 1958 г. работы Фуджимак и Аракава [104]. Эти авторы установили, что специфическая вязкость растворов мио-

зина В, полученного из мяса всех изучавшихся ими видов животных, существенно изменяется в процессе созревания. При этом чувствительность этих растворов к АТФ резко понижается и становится очень низкой. Кроме того, чувствительность к АТФ для растворов миозина В, полученных кратковременной экстракцией, выше, чем для растворов, получаемых при длительном настаивании.

Таблица 31

Продолжительность созревания, сутки	Активность (в %) при опытах						
	1	2	3	4	5	6	7
Парное	—	79	70	—	—	—	—
1	20	42	19	—	—	42	—
2	56	100	28	—	79	0	19
4	34	0	33	19	34	75	9
6	33	0	0	0	0	0	0
10	—	0	0	0	0	0	0
14	—	0	0	0	0	0	0

На основании этих данных авторами сделано заключение: содержание актина в актомиозине резко снижается в процессе созревания мяса, в результате чего актомиозин, выделенный из созревшего мяса, становится похожим по своим свойствам на свободный миозин. Таким образом, выводы о наличии в мясе актомиозинового комплекса только в начальной стадии процесса созревания были подтверждены работой Фуджимаки и Аракава [104].

Данные о несовпадении по срокам увеличения растворимости белков фракции миозина и нежности мяса были впоследствии подтверждены Соколовым и Эль-Дашлуты [57] при исследовании ими баранины.

Приведенные данные о накоплении небелкового азота и свободных аминокислот при созревании мяса, а также о сохранении активности катепсина мышечной ткани на всем протяжении этого процесса указывают на возможность наличия протеолиза при хранении мяса при низких положительных температурах. Оставалось только неясным, каким изменениям при созревании подвергаются миофибриллярные белки под влиянием имеющихся в мясе протеиназ, иначе говоря, какова начальная стадия автолиза (протеолиза), в результате которой весьма существенно изменяются их физико-химические свойства. Органолептически же эти изменения воспринимаются как уменьшение жесткости мяса.

Отсюда возникла необходимость более детально изучить вопрос о начальной стадии протеолиза миофибриллярных белков

в процессе созревания мяса и получить прямые доказательства протеолитических изменений, происходящих в них.

При этом особое внимание было обращено на белки фракции миозина, оказывающие, как известно, определенное влияние на жесткость мяса.

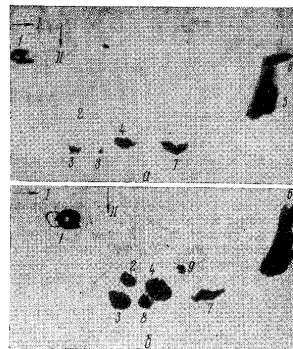


Рис. 50. Хроматограммы эфирной вытяжки ДНФ-производных аминокислот белков фракции миозина, полученных из мяса, созревающего при 8—10°С: а — 2-суточного хранения; б — 6-суточного хранения; 1 — первое направление хроматографического разделения; 11 — второе направление хроматографического разделения. 1 — дикарбоновые кислоты; 2 — глицин; 3 — серин; 4 — аланин; 5 — лейцин; 6 — тирозин; 7 — валин; 8 — треонин; 9 — ДНФ.

Для оценки возможных структурных изменений в белках фракции миозина мы определяли содержание в них N-концевых групп методом Сангера [157, 158] с внесенными в него изменениями [70].

Результаты выполненных нами опытов приведены на рис. 50 и в табл. 32. В ней отражены изменения количества N-концевых аминокислот белков фракции миозина в процессе созревания мяса при температуре 8—10°С (средние данные 6 опытов).

Таблица 32

Аминокислоты	N-концевые аминокислоты (в микромоле) на 1 моль миозина, выделенного из мяса		
	парного	двухсуточно- го хранения	шестисуточно- го хранения
Дикарбоновые кислоты	8	39	76
Аланин	4	22	71
Глицин	1	3	13
Лейцин	34	146	226
Серин	10	15	47
Общее количество шести N-концевых аминокислот	57	225	433

В подавляющем большинстве случаев наблюдается последовательный значительный рост содержания N-концевых аминокислот в белках фракции миозина в процессе созревания мяса.

Выполненные опыты показали, что в белках фракции миозина в процессе созревания мяса всегда появляются N-концевые группы одних и тех же аминокислот. Причем в парном мясе они наблюдаются в виде следов или в незначительном количестве, а по мере увеличения продолжительности созревания появляются N-концевые группы новых аминокислот и возрастает количество каждой из них.

В качестве N-концевых аминокислот белков фракции миозина, выделенных из мяса на различных стадиях его созревания, нами были идентифицированы дикарбоновые аминокислоты (глутаминовая и аспарагиновая), глицин, серин, аланин, лейцин, тирозин и треонин. Как видно из табл. 32, в процессе созревания последовательно возрастает количество каждой из изучавшихся N-концевых аминокислот и их сумма. Большинство этих групп белков фракции миозина, выделенных как из охлажденного (двухсуточного), так и созревшего (шестисуточного) мяса, приходится на лейцин и дикарбоновые кислоты (70—80%).

Таким образом, на всем протяжении созревания мяса, сопровождающегося увеличением его нежности, протекает процесс, выражающийся в разрыве пептидных связей в белках фракции миозина с образованием и накоплением в них свободных N-концевых групп лейцина, дикарбоновых кислот и некоторых других аминокислот. Эти данные являются подтверждением основной концепции Смородинцева о созревании мяса как автолитическом процессе.

При этом даже такое небольшое изменение в строении белковой молекулы, как расщепление нескольких пептидных связей,

может обуславливать резкое изменение ряда физико-химических свойств этих белков, в том числе и жесткости мышечной ткани.

Приведенные результаты показывают, что после окончания развития окоченения, во второй фазе процесса созревания при 8—10° С, одновременно с уменьшением жесткости мяса (см. таблицы 21, 22 и рис. 43) наблюдается увеличение степени его гидратации (см. рис. 40) и способности удерживать влагу при тепловой обработке (см. рис. 42). Вместе с тем N-концевые группы в белках фракции миозина накапливаются в те же сроки созревания мяса. Следовательно, рассматриваемые явления взаимосвязаны.

Мы полагаем, что эти данные проливают некоторый свет на причины установленного Детерейджем и Вербицким [81] связывания катионов белками при созревании мяса. Действительно, отмеченное накопление в белках фракции миозина N-концевых групп ряда аминокислот неизбежно сопровождается соответствующим увеличением количества свободных карбоксильных (С-концевых) групп в белковой молекуле. Это увеличение содержания свободных карбоксильных групп и приводит при созревании мяса к связыванию белками дополнительных количеств катионов.

Очевидно, причина связывания белками ионов при созревании мяса — протеолитические изменения в структуре белков фракции миозина.

Так как хранящееся в производственных условиях мясо не всегда является стерильным, имелось некоторое сомнение в автолитической природе описанного явления.

Для разрешения этого сомнения были выполнены дополнительные опыты [71] по изучению содержания N-концевых групп в белках фракции миозина, выделенных из говяжьего мяса, облученного стерилизующими дозами гамма-излучений.

Исследовалась необлученная и облученная мышечная ткань коров на разных стадиях автолиза. До облучения образцы хранились при температуре 2—4° С, тормозящей развитие автолитических процессов. Перед облучением мышечная ткань измельчалась на мясорубке и герметически упаковывалась в консервные банки порциями по 250 г. Облучение проводилось на установке Со⁶⁰ мощностью 900—1300 рад/сек. Доза облучения 5·10⁶ рад обеспечивала стерильность исследуемых образцов. После облучения образцы хранились при комнатной температуре до 60 суток.

Полученные данные подтвердили прежние результаты.

В белках фракции миозина автолизующей облученной мышечной ткани, как и необлученной, всегда обнаруживаются N-концевые группы одних и тех же аминокислот: глицина, серина, аланина, лейцина, дикарбоновых аминокислот, тирозина и валина.

Выполненные исследования дают возможность сделать такие выводы: 1) необоснованными являются утверждения некоторых

авторов [132, 163] о том, что при автолизе происходит гидролиз только белков саркоплазмы, а миозин не затрагивается протеолитическими ферментами мышечной ткани; 2) образование и накопление N-концевых групп должно быть отнесено исключительно за счет автолитических процессов, стимулируемых катепсинами мышечной ткани; 3) основной процесс, происходящий при созревании мяса и выражающийся в изменении ряда физико-химических свойств белков мяса, воспринимаемом органолептически как уменьшение его жесткости, следует рассматривать как начальную стадию протеолиза фибриллярных белков мышечной ткани под воздействием катепсинов.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ ВНУТРИМЫШЕЧНОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Одни исследователи изучали роль соединительной ткани в улучшении консистенции мяса в процессе его хранения, в то время как другие обращали основное внимание на изменения мышечных белков. В зависимости от этого делались те или другие выводы о природе изучаемых явлений.

Единодушна оценка самого устойчивого компонента соединительной ткани — эластина: созревание не оказывает на него существенного влияния. Однако эта точка зрения до настоящего времени не подтверждена биохимическими исследованиями.

Штейнер [170] высказывал предположение о том, что уменьшение жесткости говяжьего мяса в течение первых четырех или пяти дней хранения вызывалось главным образом изменениями в мышечных волокнах. Изменения в соединительной ткани, вызванные автолизом или другими причинами, по мнению автора, оказывали влияние на нежность говяжьего мяса только после продолжительного хранения, т. е. через 20 или 30 дней. Отсюда Штейнер сделал вывод: соединительная ткань играет лишь второстепенную роль в улучшении консистенции говяжьего мяса при его хранении.

В дальнейшем этот вопрос изучался Прудент [154], Уайнгарденом и сотрудниками [181], Вербицким и сотрудниками [178, 179, 180] и др.

Все они пришли к единодушному мнению: после прекращения жизни животного не происходит такого распада соединительной ткани, который бы вызывал уменьшение содержания в мясе коллагена и эластина и коррелировался с изменением нежности.

В табл. 33 приведены результаты работ Вербицкого и сотрудников [178, 179, 180] о послеубойных изменениях нежности мяса и количества содержащегося в нем коллагена.

Авторы исходили из предпосылки, что жесткость мяса обусловлена только содержанием в нем соединительной ткани. Если

она уменьшается, это должно означать, что белки соединительной ткани под действием ферментов гидролизуются, и поэтому содержание коллагена должно также уменьшаться.

Полученные данные показали необоснованность этого утверждения, так как в процессе созревания мяса не имеет место такой распад соединительнотканых белков, который бы приводил к уменьшению их содержания, коррелирующегося с изменением нежности. К аналогичному заключению пришли и другие исследователи [93, 154, 181].

Однако это не исключает того, что содержание коллагена оказывает влияние на начальную нежность мяса на 3-й день после убоя, а указывает лишь на то, что степень корреляции между этими двумя показателями к 13-му дню созревания значительно уменьшается [179].

Некоторые авторы (Детерейдж и Харшам [95], Хусани и сотрудники [117, 118]) признают влияние двух факторов на изменение нежности мяса в процессе его созревания: белки соединительной ткани и белки мышечной плазмы. Причем последние ими рассматриваются как фактор первостепенной важности.

В изданном в США под редакцией Гиллеспи руководстве «The Science of meat and meat products» [172] имеется ссылка на следующие неопубликованные данные Ванга, полученные гистохимическим методом: коллагеновая соединительная ткань не подвергав-

Таблица 33

Животные	Время убоя, сутки	Щелочестойкие белки		Оксипролин		Нежность	
		%	стандартное отклонение	%	стандартное отклонение	баллы	стандартная ошибка
			ошибка		ошибка		ошибка
Быки (1-я группа)	3	0,204	0,056	0,015	0,0051	7,29	0,25
	15	0,193	0,067	0,021	0,0065	8,11	0,16
Быки (2-я группа)	3	0,250	0,067	0,040	0,0048	6,52	0,19
	15	0,269	0,072	0,025	0,0036	7,62	0,28
Быки	3	0,409	0,148	0,050	0,0069	5,58	0,29
	15	0,460	0,093	0,030	0,0060	7,57	0,21

шегося хранению мяса однородно окрашивается в красный цвет кислым фуксином. По мере увеличения сроков хранения наблюдается потеря этой способности: остается только средство к пикриновой кислоте (желтый цвет). Измеряя плотность окраски срезов фотометрически, Ванг определял, что имеется общее прогрессирующее уменьшение способности коллагеновой соединительной ткани к окрашиванию кислым фуксином в различных мышцах (полусухожильной, длиннейшей спины), созревающих в течение 28 дней. При этом скорость, с которой шел процесс, была неодинакова для разных мышц. Так, исходная интенсивность окраски фуксином коллагеновой соединительной ткани полусухожильной мышцы в три раза превышала величину этого показателя для длиннейшей мышцы спины. После 28 дней созревания это отношение было уже только 2:1. Кроме того, потеря свойства коллагеновой ткани к фуксину в отдельных случаях была выше в течение первых двух недель хранения по сравнению с двумя последующими.

Хотя данные, полученные Вангом, являются очень важными, они дают возможность только наблюдать структурные изменения тканей, но не вскрывают их сущности и не объясняют природы наблюдаемых превращений.

В «The Science of meat and meat products» [172] приводятся также гистологические данные, свидетельствующие об изменении коллагеновой соединительной ткани в различных мышцах при созревании и последующей варке мяса. Отмечается, что в некоторых случаях потери коллагена после варки полусухожильной мышцы, которая созревала в течение 14 дней, были вдвое больше, чем при варке того же, но несозревшего мяса. Воспроизводя те же экспериментальные условия для длиннейшей мышцы спины, авторы получили несколько меньшие потери коллагена в свежей ткани по сравнению с созревшей. Рис. 51 иллюстрирует данные этих исследований.

Таблица 34

Мясо	Развариваемость коллагена к исходному содержанию, %	Фракции оксипролина фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани к его содержанию в мясе, %		
		щелочно-растворимого коллагена	растворимого при автоклавировании коллагена	нерастворимой при автоклавировании внутримышечной соединительной ткани
Парное	23,2	15,4	75,1	9,5
Двухсуточное	15,0	16,4	70,6	13,0
Шестисуточное	22,3	17,6	76,2	6,2

Авторы квалифицируют наблюдаемое явление как убыль в содержании коллагена, но мы не можем согласиться с этими выводами, так как способность коллагеновой соединительной ткани к окрашиванию тем или иным красителем может зависеть и от

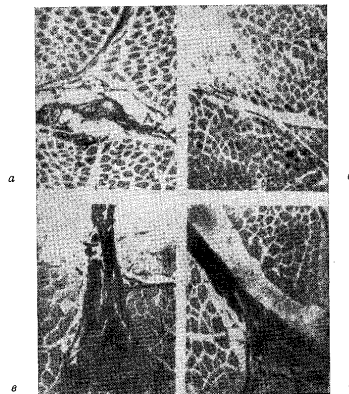


Рис. 51. Поперечные срезы, характеризующие различную степень распада коллагеновой соединительной ткани при варке. Увеличение в 90 раз: а — длиннейшая мышца спины несозревшая; б — то же созревшая в течение 14 суток; в — то же полусухожильная мышца несозревшая; г — то же созревшая в течение 14 суток.

незначительных структурных изменений, нарушения отдельных связей, присоединения ионов и других причин. Кроме того, остается невыясненным, относится ли это изменение к собственно коллагену или к коллагеновой соединительной ткани, включающей в себя основное вещество.

Последующие работы [19, 63, 66, 67, 69] подтвердили биохимическими методами результаты наблюдений и позволили до некоторой степени вскрыть сущность наблюдаемых изменений.

В табл. 34 приведены данные [19, 67] об изменениях лабильности фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани в процессе созревания мяса при 8—10°С (средние данные из 7 серий опытов).

При рассмотрении этих данных прежде всего следует отметить, что развариваемость коллагена парного мяса достигает в среднем 23,2% от его исходного содержания в неподвергавшихся тепловой обработке образцах мяса.

Величина этого показателя значительно уменьшается в первой стадии хранения мяса и через двое суток составляет в среднем всего 15,0%. При дальнейшем хранении, во второй фазе созревания, развариваемость коллагена снова возрастает (в среднем до 22,3%, а в отдельных образцах мяса этот процент даже выше).

Таким образом, с большой достоверностью можно сказать, что развариваемость коллагена изменяется на всех этапах наблюдаемого периода хранения мяса, имея отчетливо выраженный минимум в стадии послеубойного очождения.

Учитывая большое значение этой закономерности для правильного понимания сущности послеубойных биохимических процессов были предприняты попытки вскрыть ее причины. Для этого исследовалась лабильность отдельных компонентов внутримышечной соединительной ткани [19, 63, 66, 67, 69].

При оценке лабильности фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани выявлено, что солерастворимая фракция, полученная путем экстрагирования измельченного мяса 0,6 М раствором KCl, не содержит оксипролина. Поэтому при изучении лабильности содержащегося в мясе коллагена анализировались его фракции: щелочерастворимая, растворимая при автоклавировании и нерастворимая при автоклавировании.

Как видно из табл. 34, в процессе созревания мяса не наблюдается значительных изменений в экстрагируемости 0,1 М раствором щелочи содержащих оксипролин (ОП) белков. Однако при этом преобладающей является тенденция нарастания данной фракции в процессе 6-суточного хранения мяса при 8—10°С.

Автоклавирование с водой остатка после щелочной экстракции в заданных условиях дает возможность извлечь в водный экстракт большую долю коллагена. Она неодинакова для парного, двух- и шестисуточного мяса, и коллаген с большей или меньшей легкостью переходит при автоклавировании в раствор в зависимости от срока хранения мяса. Так, при переходе от парного состояния мяса к двухсуточному в растворимую при автоклавировании фракцию извлекается меньше коллагена, а от двухсуточного мяса к шестисуточному — количество коллагена в этой фракции снова несколько возрастает.

Обратная картина наблюдается во фракции белков, нерастворимых при данных условиях автоклавирования. Остаток после

отделения экстракта, полученного автоклавированием с водой и последующей промывки, не представляет собой чистого эластина: он содержит некоторое количество коллагена и тем больше, чем менее лабилен этот белок.

По-видимому, наблюдаемые изменения фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани при хранении парного мяса в течение 2 суток выражаются как переход:

- 1) растворимой при автоклавировании фракции в нерастворимую;
- 2) растворимой при автоклавировании фракции в щелочерастворимую.

При этом первый процесс является преобладающим.

При дальнейшем хранении мяса до 6 суток эти изменения выражаются как переход:

- 1) нерастворимой при автоклавировании фракции коллагена в растворимую,
- 2) растворимой при автоклавировании фракции в щелочерастворимую.

И опять первый процесс является преобладающим.

Полученные результаты исследования лабильности фибриллярных компонентов подтверждают установленную закономерность изменений развариваемости коллагена и данные о наблюдаемых гистологическим методом изменениях соединительной ткани при созревании мяса.

Итак, структурные белки внутримышечной соединительной ткани становятся менее лабильными при переходе от парного состояния мяса к двухсуточному, и их лабильность увеличивается при созревании мяса в течение 6 суток при 8—10°С.

Учитывая данные Мак Интош [145] о содержании в солерастворимой фракции гексозаминов (ГА), связанных с белками плазмы (т. е. не принадлежащих компонентам соединительной ткани), за индекс основного вещества принимаю количество гексозаминов в остатке после экстракции 0,6 М раствором KCl [69].

Изменения основного вещества внутримышечной соединительной ткани полусухожильной мышцы и его лабильности в процессе созревания мяса при температуре 8—10°С (среднее из 7 серий опытов) показаны в табл. 35 [69].

Как видно из табл. 35, переход от парного состояния мяса к двухсуточному сопровождается некоторым увеличением (в среднем на 5,6%) количества гексозаминсодержащих соединений, определяемых как основное вещество. В ходе дальнейшего созревания мяса (к 6 суткам) наблюдается уменьшение количества этого компонента во внутримышечной соединительной ткани (в среднем до 60,8%).

Следовательно, в мясе при его хранении имеют место процессы, сопровождающиеся изменениями растворимости гексозамин-

Таблица 35

Мясо	Гексоамины основного вещества к содержанию гексоаминов в мясе, %	Распределение гексоаминов основного вещества по фракциям к их содержанию в основном веществе, %		
		щелочера- створимая	растворима при автокла- вировании	нерастворима при автокла- вировании
Парное	63,5	73,9	22,2	3,9
Двухсуточное	69,1	63,9	33,8	2,3
Шестисуточное	60,8	72,2	25,0	2,8

содержащих компонентов основного вещества внутримышечной соединительной ткани. Результаты исследования лабильности основного вещества путем его фракционирования на так называемые легкорастворимые (растворимые в 0,1 N растворе NaOH) и труднорастворимые (растворимые при автоклавировании) гексоаминсодержащие компоненты подтверждают наличие таких изменений.

В зависимости от срока хранения мяса распределение гексоаминов по этим фракциям изменяется следующим образом: на первой стадии хранения мяса (двухсуточное) рост содержания основного вещества сопровождается одновременным уменьшением его лабильности. Она определяется по растворимости гексоаминсодержащего компонента в 0,1 N NaOH, а также при автоклавировании остатка после щелочной экстракции. Эта стадия характеризуется тем, что в мясе еще сохраняются признаки окоченения и не наступило его полное расслабление.

Во второй фазе созревания мяса (шестисуточное), когда в мясе преобладают деструкционные процессы, приводящие к улучшению его консистенции, эти изменения носят прямо противоположный характер.

Взаимосвязь между нежностью мяса, развариваемостью коллагена, содержанием основного вещества и лабильностью компонентов внутримышечной соединительной ткани представлена на диаграммах, изображенных на рис. 52.

Корреляционная связь наблюдаемых изменений была установлена между изменениями нежности (по Гамму) и лабильности основного вещества. Это указывает на то, что нельзя исключить влияние компонентов внутримышечной соединительной ткани на упруго-пластические свойства мяса. Вычисления коэффициентов корреляции между содержанием гексоаминов щелочерастворимой фракции и показателем нежности мяса указывают на взаимосвязь этих величин как в первой, так и во второй фазах созревания. Величина развариваемости коллагена внутримышечной соединительной ткани находится в обратной зависимости от изменения содержания основного вещества.

Следовательно, на консистенцию мяса в процессе его созревания оказывают влияние как содержание мукопротеинов во внутримышечной соединительной ткани, так и их состояние. Об этом свидетельствует высокое значение коэффициентов корреляции между изменениями общего количества основного вещества и его лабильности, с одной стороны, и показателей, характеризующих консистенцию мяса (нежность сырого мяса и развариваемость коллагена), — с другой.

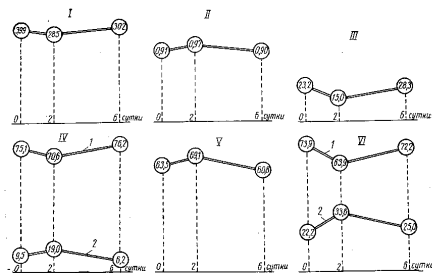


Рис. 52. Изменения нежности мяса и лабильности компонентов внутримышечной соединительной ткани в процессе созревания мяса в течение 6 суток при 8–10° С (Кузнецова и Соловьев): I — нежность сырого мяса, см² (Гамма); II — сопротивление разрезанию, кг; III — развариваемость коллагена, %; IV — распределение по фракциям фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани, %; I — растворимая при автоклавировании фракция, 2 — нерастворимая; V — содержание гексоаминов основного вещества к сумме гексоаминов в мясе, %; VI — распределение по фракциям гексоаминов внутримышечной соединительной ткани, %; I — легкорастворимая фракция; 2 — труднорастворимая.

При наступлении посмертного окоченения и контракции мышечных волокон изменения основного вещества внутримышечной соединительной ткани, вероятно, могут протекать в направлении его полимеризации.

Было показано, что при наступлении окоченения имеет место уменьшение водосвязывающей способности белков мышечной ткани и освобождающаяся при контракции вода должна, по-видимому, фиксироваться иным механизмом. С этой точки зрения основное вещество соединительной ткани является весьма мобильным и может рассматриваться как дополнительный резерв для частичного связывания воды.

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ БИОХИМИЧЕСКИХ, МИКРОСКОПИЧЕСКИХ
И ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПРОЦЕССЕ УЛУЧШЕНИЯ
НЕЖНОСТИ ПРИ СОЗРЕВАНИИ МЯСА**

На основании литературных и собственных экспериментальных данных нами составлена схема последовательности биохимических, микроскопических и органолептических изменений в процессе созревания мяса [63].

Эта схема позволяет на каждом отдельном этапе послеубойного хранения мяса при низких положительных температурах определить, как морфологически характеризуются те или другие биохимические процессы и какое они имеют значение для органолептических свойств продукта.

Материалом для гистологических исследований служило восемь групп скелетных мышц 20 туш коров. Пробы от этих мышц отбирались от каждой туши по 34 раза в различные сроки хранения при низкой положительной температуре. Из каждой пробы готовилось по 27 препаратов, т. е. по 9 срезов — препаратов, полученных после заключения в целлоидин, каждой окраски (гематоксилин-эозин, по Ван Гизон и импрегнация серебром). При исследовании под микроскопом заключения делались по преобладающему большинству признаков, выявленных на каждом срезе. Таким образом, эти заключения основывались на изменениях не единичных волокон, а массового материала.

Это позволило их сопоставить с данными биохимических исследований, полученными в результате анализа средних проб.

Биохимические показатели	Микроскопические показатели
Характеристика мяса в момент убоя животного	
Вследствие наличия АТФ актомиозиновый комплекс не может образоваться. В мясе находится актин и миозин. рН мяса близкий к 7,0. Большая часть воды находится в связанной форме.	До наступления посмертного окоченения (1,5—3 ч после убоя) мышечные волокна набухшие, границы волокон, поперечная и продольная исчерченность слаборазличимы, ядра сдвинуты, хроминовые тельца ядер сохранились. Реакция набухаемости мышечных волокон придает им некоторую ворсинчатость.

Первая фаза созревания мяса

Процессы, вызывающие окоченение, преобладают над процессами, приводящими к увеличению нежности мяса. Начало 1,5—3 ч после убоя, конец 1—2 суток после убоя

1—5. Уменьшение количества связанной воды до минимума, увеличение жесткости мяса

1. $АТФ \rightarrow АДФ + АМФ$
2. $(C_4H_{10}O_8)_n \rightarrow C_3H_5O_4$ (при рН 5,0—5,8 максимум жесткости мяса)

3. Актин + миозин \rightarrow актомиозин

1—3. Через 6—12 ч после убоя группы мышечных волокон находятся в состоянии сокращения. Вид их волнообразный, S-образный и узловатый

4—5. Соединительная ткань находится в состоянии волнообразного сокращения и оно выражено в несколько

Исследованиями Видберга [119—122] установлено: при повышении степени полимеризации мукополисахаридов основного вещества ими удерживается большее количество воды. На вторые сутки хранения мяса нами отмечается увеличение доли гексозаминов в основном веществе внутримышечной соединительной ткани. На основании этого предполагается возможность образования при посмертном окоченении мукопротеинов более высокой степени полимеризации.

До настоящего времени развитие посмертного окоченения рассматривалось только с точки зрения изменений мышечных белков (миозина).

Полученные нами данные [19, 69] указывают на возможность участия в этом процессе также основного вещества внутримышечной соединительной ткани.

Во второй стадии созревания мяса преобладающими являются аволигитические процессы, приводящие к разрушению отдельных компонентов животной ткани.

Приведенные выше результаты свидетельствуют о том, что эти же процессы имеют место и в основном веществе внутримышечной соединительной ткани, благодаря чему увеличивается количество гексозаминов, экстрагируемых с белками плазмы, а лабильность мукопротеинов основного вещества увеличивается.

Таким образом, биохимические процессы в основном веществе внутримышечной соединительной ткани во второй фазе созревания мяса протекают по следующей схеме:

Труднорастворимая фракция основного вещества внутримышечной соединительной ткани	→	Легкорастворимая фракция основного вещества внутримышечной соединительной ткани	→	Фракция гексозаминов и плазмы
--	---	---	---	----------------------------------

Причины изменений лабильности основного вещества нами полностью еще не вскрыты. Однако есть основания считать, что в превращениях этого компонента во второй фазе созревания принимают участие факторы, приводящие к разрушению мукопротеинов, в частности ферменты, обладающие мукопротеиназной или протеолитической активностью, о чем будет сказано ниже.

Таким образом, наши исследования компонентов внутримышечной соединительной ткани, изменений развариваемости коллагена и нежности в процессе созревания мяса [рис. 52] доказывают правильность предположений прежних исследователей о зависимости жесткости мяса не только от количества, но и от состояния соединительной ткани [5, 6, 7, 22, 142]. При этом состоянии основного вещества внутримышечной соединительной ткани в некоторой мере определяет гидротермическую устойчивость коллагена, а следовательно, и жесткость подвергнутого тепловой обработке мяса.

Биохимические показатели	Микроскопические показатели
4. Уменьшение до минимума лабильности коллагена внутримышечной соединительной ткани	ко раз сильнее, чем у мускульных волокон
5. Уменьшение развариваемости коллагена внутримышечной соединительной ткани до минимума, сопровождающееся увеличением до максимума количества основного вещества внутримышечной соединительной ткани и снижением его лабильности	6. Через 12—24 ч после убоя намечаются границы в виде поперечных полос с потерей исчерченности в местах последующего распада мышечных волокон на сегменты. Через 1 сутки в местах этих полос появляются шелуховидные истончения, которые в некоторых случаях полностью развешивают миофибриллы волокна
6. Появление N-концевых групп в белках фракции миозина	

Вторая фаза созревания мяса

Процессы, приводящие к увеличению нежности мяса, преобладают над процессами, вызывающими окоченение. Начало 1—2 суток после убоя; конец—10—12 суток после убоя при 0—4° С или 6 суток при 8—10° С

1—8. Увеличение количества связанной воды. Постепенное, продолжающееся до конца фазы уменьшение жесткости мяса. Между вторыми и шестыми сутками при 0° С увеличение количества остаточного легкогидролизуемого фосфора

2. Актомозин → актин + миозин (между вторыми и шестыми сутками при 0° С)

3. $\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2 \rightarrow \text{C}_3\text{H}_8\text{O}_9\text{Ca}$

4. На всем протяжении второй фазы происходит накопление N-концевых групп в белках фракции миозина, вызываемое действием протеиназ мяса (начальная стадия протеолиза)

5. Связывание катионов (в первую очередь ионов К) свободными карбоксильными группами, образующимися в белках фракции миозина

6. Продолжение протеолитических процессов, приводящих к накоплению в экстракте свободных аминокислот. Появление в экстракте созревшего мяса свободных гистидина, тирозина и фенилаланина

7. Под действием протеиназ лабильность коллагена внутримышечной соединительной ткани увеличивается

8. Увеличение развариваемости коллагена между вторыми и шестыми сутками созревания при температуре 80—100° С, уменьшение количества основного вещества внутримышечной соединительной ткани и повышение его лабильности

1—6. В начале второй фазы происходит распад на сегменты отдельных групп мускульных волокон, находящихся в состоянии сокращения; наблюдается распад некоторых волокон с узлами. К шестым суткам при 8—10° С последовательно усиливается дезинтеграция мускульных волокон, находящихся еще в состоянии сокращения: происходит множественный и глубокий сегментный распад волокон, зернистый распад сегментов, выделенный распад и исчезновение ядер. Сарколемма остается неповрежденной

7—8. Через 2 дня хранения в соединительнотканых волокнах (перемизии) наблюдается начинающийся распад с образованием единичных сегментов. К концу 6-х суток созревания при 8—10° С наблюдается разрыхление, отделение и распад межмышечной соединительной ткани. Перемизии и эндомизии разрыхлены, отделяются от мускульных волокон и происходит их распад

Имеющиеся многочисленные экспериментальные данные в своем большинстве правильно отражают сущность протекающих в мясе процессов созревания и причины улучшения нежности.

Особенно важными являются данные: о наличии прямой зависимости между гидратацией и нежностью мяса, об отсутствии корреляции между количеством белков соединительной ткани и нежностью, приобретаемой мясом при его хранении, о роли белков мышечных волокон и состояния компонентов внутримышечной соединительной ткани в процессе созревания мяса, о гистологических изменениях в мышечной ткани. Однако различные авторы по-разному интерпретируют эти данные и делают различные выводы, выдвигая свои гипотезы. Приведем главные из них.

Гипотеза Морана, Бейт-Смита и Бендолла [86, 144]. Из того факта, что уменьшение жесткости, определяемой по модулю эластичности, отчетливо наблюдается при хранении целых, неповрежденных мышц, прикрепленных к костной ткани, и происходит в меньшей степени в изолированных мышцах (кроме тех случаев, когда они подвергаются энергичной механической обработке или бактериальному воздействию), авторы делают вывод, что расслабление окоченения «является комбинацией механического сгибания суставов и гнилостного размягчения тканей». Они отделили процесс расслабления посмертного окоченения от процесса улучшения консистенции мяса при его созревании, предполагая, что это два различных процесса.

Второй процесс они характеризуют так: «разрушение сарколеммы мышечных волокон... вместе с частичным разрушением соединительной ткани являются ответственными за то, что мясо становится нежным в процессе созревания». Коллаген, по мнению авторов, при созревании мяса набухает под воздействием молочной кислоты и при последующей варке легче размягчается и в большей степени переходит в глютин.

Необходимо отметить отсутствие каких-либо экспериментальных данных, свидетельствующих о разном характере процессов расслабления посмертного окоченения и улучшения консистенции мяса при его созревании, а также о воздействии молочной кислоты на набухание белков соединительной ткани в процессе увеличения нежности при созревании. Ссылка авторов на участие гнилостной микрофлоры в процессе расслабления посмертного окоченения не выдерживает критики, так как доказано, что при созревании мяса в течение 10 дней микроорганизмы в нем либо вовсе отсутствуют, либо их количество остается ничтожно малым. Более того, Пауль, Лоу и Мак Клург [152] не обнаружили никаких признаков роста микроорганизмов до 18-го дня хранения образцов.

На начальных этапах процесса созревания мяса, когда, как полагают Моран и сотрудники происходит расслабление по-смертного ооченения, наблюдается даже сокращение того незначительного количества микроорганизмов, которое имелось в парном мясе.

Таким образом, авторы остались на устаревших позициях и не сделали еще выводов из тех многочисленных экспериментальных данных, которые устанавливают роль белков мышечной ткани в процессе улучшения консистенции мяса при его созревании (Хусанни и сотрудники [117, 118], Штейнер [170] и др.).

Касаясь вопроса о роли соединительной ткани в процессе послеубойного улучшения консистенции мяса, следует иметь в виду, что ее состояние (лабильность) в различных пробах мяса неидентично.

При исследовании влияния разных количеств соединительной ткани на жесткость мяса ранее изучалось лишь содержание белковых компонентов, обуславливающих ее волокнистую структуру, т. е. коллагена и эластина, без учета изменения их лабильности. Состояние и количество межтучного вещества также не принималось во внимание.

Утверждение ученых о том, что соединительная ткань состоит из пучков структурных волокон коллагена и эластина, находящихся в аморфном межтучном веществе, дает возможность сделать следующий вывод: даже самые чувствительные и точные методы определения коллагена и эластина не в состоянии полно охарактеризовать соединительную ткань как целое и не могут объяснить природу и причины изменений нежности мяса. Межтучное вещество соединительной ткани, несмотря на незначительное количество, как нами было показано, играет определенную роль и принимает участие в процессе улучшения консистенции мяса при его созревании; от его состояния и количества в определенной мере зависит способность коллагена к развариванию.

Диффузионная гипотеза Вербичко и Детерейджа (81, 178, 179). Из того факта, что количества аминокислот, остаточного и полипептидного азота возрастают незначительно в процессе созревания мяса, авторы делают вывод: «...классический протеолиз не имеет места при созревании мяса».

В другой статье они пишут: «...довольно широко распространено мнение о том, что процесс созревания является протеолитическим. Указывалось на то, что в него вовлечен в качестве фермента катепсин. Однако классический подход к вопросу, имеющий целью получение касающихся этого данных, дал отрицательные или неубедительные результаты. Какими бы ни были изменения белков, они являются совершенно неувольнимыми».

Доказано, что первостепенные свойства мяса, такие как нежность, потери сока при варке, потери сока при дефростации и обратимость процесса обезвоживания, основываются на влаго-

удерживающей способности белков мяса. Однако Вербичкий и Детерейдж считают, что влапоглатимость и влапоудержание в свою очередь целиком и полностью обуславливаются происходящей после прекращения жизни животного беспорядочной диффузией катионов (в первую очередь калия) внутрь клеток и их связыванием белками. При возрастании общего заряда белка соответственно возрастает и гидратация. Поэтому значение катионов для влапоудерживающей способности и для нежности мяса заключается не в содержании общего количества каждого катиона, а в их объединенном действии и в перемещении ионов в процессе посмертного созревания.

Критикуя эту точку зрения Вербичко и Детерейджа, Гамм [108] вполне обоснованно замечает: «Вывод Детерейджа и сотрудников о том, что во время созревания не происходит протеолиза, который они делают из того факта, что при этом не возрастает, а даже уменьшается содержание растворимых в воде и буферных растворах азотистых веществ говяжьего мяса, заставляет потребовать более четкого определения понятия «протеолиз». «Если под протеолизом понимать такое воздействие протеаз, которое приводит к образованию растворимых продуктов расщепления, то вывод Детерейджа безусловно верен. Если же под протеолизом понимать расщепление любого количества пептидных связей под действием протеолитических ферментов, — а это определение мы считаем более верным, то можно себе представить, что незначительный протеолиз, т. е. расщепление только небольшого числа пептидных связей, значительно изменяет механическое строение мышцы, не вызывая при этом образования растворимых продуктов расщепления». Нельзя не согласиться с убедительностью этой критики.

Безусловно, количественное содержание катионов в мышечной ткани оказывает большое влияние на заряд белковых веществ и отсюда на гидратацию и нежность мышечной ткани.

Однако нам представляется, что послеубойное перераспределение ионов между клеткой и окружающей ее средой не может быть беспорядочным и должно явиться следствием изменений в структуре белковых веществ. Кроме того, возникает вопрос, можно ли сводить весь комплекс химических превращений, происходящих при созревании мяса, к диффузии и простому перераспределению ионов между клеткой и окружающей ее средой? Такое толкование было бы слишком упрощенным. Подтверждением этому служит также форма кривой изменений калия в процессе созревания мяса, которая существенно отличается от кривой изменений нежности. Следовательно, последние обусловлены не только сдвигом ионов, но и другими факторами.

Точка зрения Смородинова. Смородинов [47, 52] доказал, что созревание мяса обуславливается ферментами самого мяса, т. е. оно является аутолитическим процессом. Однако при обо-

снования своей точки зрения автор исходил из неправильной предпосылки: мясо через 20—30 ч после забоя становится нежным, вкусным и ароматичным, т. е. практически его можно признать созревшим, готовым для кулинарной обработки». Как нами было показано ранее, к этому сроку мясо еще находится в состоянии околочения, и поэтому установленные автором показатели (переход миозина в строму, накопление молочной кислоты и др.) в большей степени характеризуют течение процесса посмертного околочения, чем улучшения консистенции мяса при созревании.

Сморodinцев, Крылова и другие авторы [41, 42, 51, 52] на основании относительного постоянства остаточного, аммиачного и других форм азота сделали вывод: в процессе созревания мяса его белковая система стабилизируется, не подвергаясь сколько-нибудь существенным изменениям. Следовательно, они рассматривали белковую систему мяса как нечто стабильное, неизменное.

Представления авторов о неизменяемости белков при созревании мяса не согласуются с современными научными взглядами и наблюдениями об изменении нежности мяса при его созревании, а также гистологическими данными многих исследователей, указывающих на наличие процессов распада тканей.

Кроме того, этому противоречат данные самого Смородинцева и его сотрудников об изменении ряда физико-химических показателей мяса через 5—6 дней его хранения (увеличение вязкости, электропроводности и др.).

Таким образом, в точке зрения Смородинцева следует отличать безусловно правильную общую концепцию о сущности процесса созревания мяса от некоторых устаревших представлений о конкретном характере биохимических и физико-химических изменений, обуславливающих нежность мяса на различных стадиях послеубойного хранения.

Гипотеза диссоциации актомиозина. Классические работы Энгельгардта и Любимовой [23, 78] положили начало новому направлению в биохимии мышц и подчеркнули наличие тесной взаимозависимости между изменениями АТФ и миозина. В дальнейшем эти взгляды были развиты Сент-Дьердьи [40] и Эрдошем [103].

Было также установлено [59, 60, 61] увеличение растворимости белков фракции миозина во время хранения мяса и изменение вязкости его растворов после добавления АТФ, характеризующее степень активности актомиозина.

На основании этих экспериментальных данных Соколов [55], рассматривая возможные причины изменения нежности мяса при его созревании, отмечает, что «изменение жесткости мяса в период созревания может быть поставлено в зависимость только от состояния основных белков мышечного волокна... Диссоциация

актомиозина на актин и миозин вероятна и в наибольшей степени объясняет уменьшение жесткости мяса». «Таким образом, уменьшение жесткости мяса в период созревания может быть объяснено диссоциацией актомиозина... и последующей гидратацией миозина водой, мигрирующей из белков плазмы, которые коагулируют в связи с увеличением активной кислотности среды». Однако мы установили [59, 60, 61], что увеличение растворимости миозина и изменение его вязкости после добавления АТФ по срокам не совпадают с определяемым органолептически увеличением нежности мяса. Этот вывод был подтвержден Эль-Дашлути [77]. Поэтому диссоциация актомиозина на актин и миозин не может рассматриваться как главный и единственный фактор, обуславливающий увеличение нежности мяса при его созревании. Правильнее сказать, что с этого момента более интенсивно начинается улучшение консистенции мяса.

Протеолиз фибриллярных белков мышечных волокон и компонентов соединительной ткани. Впервые точка зрения о том, что в основе послеубойных изменений лежат ферментативные автолитические процессы, была высказана Хаогландом, Мак-Брайдом и Пуовиком [114]. С тех пор эта точка зрения стала широко распространенной. Смородинцев [47] тоже полагал, что в конечном счете ферменты и обуславливают весь ход процесса изменения белков при созревании мяса.

Впоследствии утверждение о протеолизе как основной причине увеличения нежности мяса в процессе его созревания поддерживалось многими авторами [82, 93, 108, 109, 110, 129].

Однако незначительность увеличения количества остаточного азота, аминокислот, аммиака, полипептидов, а также общего количества экстрактивных веществ [42, 51, 52] вызвала возражения против этого взгляда. Очевидно, в данном случае происходят значительно менее глубокие изменения в белковой молекуле, которые нельзя уловить при помощи вышеуказанных показателей, обычно характеризующих процессы протеолиза. Полученные в последнее время данные [93, 100, 106, 146, 147] об изменениях свободных аминокислот и пептидов в процессе созревания мяса дают указания на возможность их отщепления от белков. Однако эти работы нельзя рассматривать как доказательство протеолитических изменений миофибриллярных белков мяса, поскольку источником образования свободных аминокислот могут быть находящиеся в мясе естественные пептиды. Причиной появления последних может быть пептидазное, а не протеиназное действие ферментов.

Кроме того, некоторыми авторами [132, 163] выдвинуто предположение о вовлечении в протеолитические изменения, происходящие при хранении мышечной ткани, только белков саркоплазмы, в то время как миофибриллярные белки этими процессами якобы не затрагиваются.

Предположение о неизменяемости миофибриллярных белков при автолизе мышечной ткани основано на том, что миозин, выделенный из хранившегося в асептических условиях мяса, сохраняет свою растворимость и обладает некоторой ферментативной активностью.

Выводы Гамма [108, 109, 110] о причинах, вызывающих изменения гидратации и буферной емкости, указывают на возможность появления в белковых молекулах в результате протеолиза новых свободных карбоксильных и аминогрупп при созревании мяса.

Различия в свойствах белков мяса на разных стадиях процесса созревания (содержание связанной воды, жесткость мяса) свидетельствуют об их лабильности, о происходящих существенных изменениях в их составе или структуре.

Гистологические наблюдения над состоянием мышечных волокон на разных этапах процесса созревания мяса указывают на наличие процессов распада, дезинтеграции, которые легче всего связать с протеолизом. Подтверждением этой точки зрения является также применяющаяся в последние годы за рубежом в промышленных масштабах практика искусственного улучшения консистенции мяса при помощи протеолитических ферментов [143, 151, 177].

До последнего времени не было прямых доказательств наличия таких изменений в химическом составе или структуре миофибриллярных белков и компонентов соединительной ткани при созревании мяса, которые бы свидетельствовали о течении процесса протеолиза и коррелировались с изменением нежности. Такие доказательства в последнее время получены [19, 66, 67, 68, 69, 70, 71], и, следовательно, гипотеза о протеолизе миофибриллярных и соединительнотканых белков как основной причине увеличения нежности мяса при его созревании может считаться доказанной.

ИЗМЕНЕНИЯ НЕЖНОСТИ В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ МЯСА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Как нами отмечалось, процесс созревания и происходящее при этом улучшение консистенции мяса имеет исключительное значение для мяса крупного рогатого скота. Этот процесс имеет некоторое влияние на качество мяса и других видов животных. Исследования проводились по изучению изменений биохимических показателей и консистенции в процессе хранения при низких положительных температурах свинины, [4, 73, 88, 138], баранины [57, 77], мяса птицы [96, 97, 127, 138, 176] и рыб [11, 35].

Результаты этих исследований, характеризующие оптимальные сроки улучшения консистенции при созревании различных видов мяса, представлены в табл. 36.

Таблица 36

Виды мяса животных и рыбы	Температура созревания, °С	Продолжительность после убоя, в течение которого отмечается улучшение нежности, сутки	Литературные источники
Свинина	2	15	[73]
Баранина	0	8	[57, 77]
Мясо птиц	0—4	0,25—1	[96, 97, 127, 138]
Судак	0	2—4	[11, 35]
Щука	0	4—5	[11, 35]
Карп	0	5—6	[11, 35]
Сиг	0	3	[11, 35]

Сроки, необходимые для достижения оптимальной нежности разных видов мяса, обусловлены различной интенсивностью протекающих при этом биохимических процессов.

Таблица 37

Показатели	Продолжительность созревания, ч							
	0	6	12	18	24	48	96	192
pH	6,50	5,95	5,81	5,81	5,72	5,91	5,93	5,93
Свободная вода по Грау (см ² внешнего патна)	5,7	9,5	11,1	14,6	14,8	12,7	11,4	10,2
Нежность по Грау (см ² внутреннего патна)	3,90	3,71	3,20	2,64	2,45	2,73	3,05	3,25
Усилие резания, кг/см ²	1,5	1,6	1,7	1,9	2,0	1,8	1,5	1,2
Растворимость белков фракции актомиозина, г на 100 г мяса	3,43	2,33	1,82	1,23	0,82	1,06	1,21	1,31
Интенсивность аромата бульона	200,0	170,0	170,0	140,0	140,0	170,0	200,0	330,0
Интенсивность вкуса бульона	5,5	5,0	4,5	4,0	4,0	5,0	5,7	6,7

Примечание. Данные об изменении* интенсивности аромата и вкуса бульона выражены кратностью разбавления бульона до потери ощущения аромата и вкуса.

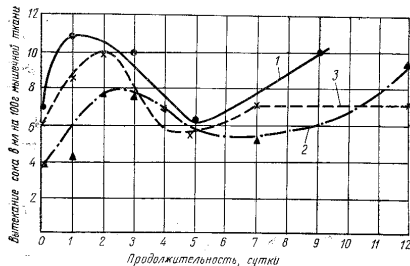


Рис. 53. Изменения водоудерживающей способности мышечной ткани рыб в процессе хранения при 0°С (Головкин и Першина):
1 — карп 0,5 кг; 2 — карп 1,5 кг; 3 — щука 1 кг.

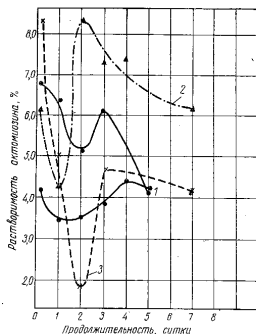


Рис. 54. Изменения растворимости актомиозина мышечной ткани рыб в процессе хранения при 0°С (Головкин и Першина):
1 — карп; 2 — судак; 3 — сиг.

Так, например, количество экстрагируемого азота миофибриллярных белков мяса кур увеличивалось в течение только одних суток хранения при 4°С [176].

Как отмечают авторы, это увеличение полностью относилось за счет актомиозиновой фракции. Вместе с этим растворимость белков фракции актомиозина баранины после прохождения минимума при окочении увеличивается вплоть до 8 суток хранения после убоя. В процессе созревания баранины одновременно с увеличением нежности наблюдается улучшение вкуса и аромата мяса [77].

Результаты опытов, выполненных Эль-Дашлуты [77], характеризующие изменения ряда физико-химических и биохимических показателей в процессе созревания баранины при 0°С, представлены в табл. 37.

Особенности течения процессов созревания в мышечной ткани рыб представлены на рис. 53 и 54.

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ИЗМЕНЕНИЕ ВКУСА И АРОМАТА СОЗРЕВАЮЩЕГО МЯСА

Еще более сложным и неясным является вопрос о химической природе накапливающихся в процессе созревания веществ, обуславливающих вкус и аромат вареного созревшего мяса.

Имеющиеся в литературе данные об образовании при созревании мяса вкусовых и ароматических продуктов крайне немногочисленны.

ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПУРИНОВОГО АЗОТА ПО ФРАКЦИЯМ

Как нами выше отмечалось, инозиновая кислота или продукты ее распада обладают согласно Кримбергу [18] приятным вкусом, напоминающим мясной отвар.

В литературе имеются следующие данные о содержании, образовании и изменениях инозиновой кислоты и других нуклеотидов при автолизе мышечной ткани.

По данным Остерна [150], нуклеотиды составляют главную часть пуринового азота свежего мяса: из 31,28 мг% общего количества пуринового азота на долю нуклеотидов падает 25,69 мг%, в то время как количество нуклеозидов и свободных пуринов является незначительным, составляя только 5,59 мг%. Среди нуклеотидов вытяжки из свежего мяса преобладает инозиновая кислота, составляющая почти 85% пуринового азота нуклеотидов. Адениловая кислота содержится в сравнительно незначительных количествах (около 4 мг% азота). Остерн показал, что в числе нуклеозидов и свободных пуринов имеется только гипоксантин.

Им также было установлено, что в течение шести часов автолиза кашицы из мускулов кролика при температуре ледяного холодильника происходят следующие процессы, изменяющие распределение пуринового азота в мясе:

1. Полное исчезновение гуаниловой кислоты при отсутствии гуанина в фракции нуклеозидов и свободных пуринов.
2. Резкое уменьшение количества адениловой кислоты, не вызывающее образование аденозина и свободного аденина.
3. Образование инозиновой кислоты.
4. Частичный распад инозиновой кислоты с образованием инозина или свободного гипоксантина.

По этим же данным механическое разрушение мускульной ткани и прибавление к мускульной каше избытка воды значительно ускоряет процесс превращения адениловой кислоты в инозиновую.

Керр и Серайдарьян [125] изучали вопрос о распределении пуринов по фракциям в экстрактах скелетных мускулов в зависимости от различной продолжительности автолиза при 37° С.

При этом авторы установили: в неповрежденном мускуле собаки, в котором автолитические процессы были прекращены замораживанием в жидком воздухе, почти весь пуриновый азот нуклеотидов находится в форме адениннуклеотида; инозиновая кислота отсутствует, а гуаниловая содержится лишь в крайне незначительных количествах.

Аденин совершенно отсутствует во фракциях нуклеозидов и свободных пуринов как в свежих, так и в автолизированных мускулах.

В процессе автолиза измельченных мускулов при 37° С наблюдается прогрессивное уменьшение количества адениловой кислоты до 13% ее первоначального содержания через 1 ч. Наряду с этим отмечается некоторое увеличение количества инозиновой кислоты в первый период автолиза, затем происходит быстрый ее распад в результате образования инозина и свободного гипоксантина.

Эти экспериментальные данные в основном относятся к автолизу измельченной мышечной ткани собаки и кролика. Важно установить динамику и последовательность процессов распада нуклеотидов при созревании мяса крупного рогатого скота в практических условиях.

Нами проведены обширные исследования изменений азота нуклеотидов, нуклеозидов и свободных пуринов в процессе созревания мяса при различных температурных условиях [60, 61]. Результаты этих опытов приведены в табл. 38—41.

Кроме того, они иллюстрированы кривыми на рис. 55—57. Учитывая, что вкус и аромат мяса проявляются в процессе его тепловой обработки, исследования проводились на мясе, сваренном при строго определенных условиях, идентичных с применяв-

шимися при изучении органолептических показателей мяса в процессе его созревания.

Как видно из данных табл. 38, в парном мясе, подвергнутом тепловой обработке непосредственно после убоя животного, главной фракцией пуринового азота (около 75%) являются нуклеотиды.

Кроме того, в нем в сравнительно значительных количествах (в среднем более 20% от суммы фракций) присутствуют также свободные пурины, главной составной частью которых (75%) является свободный гипоксантин.

Количество нуклеозидов (инозина) крайне незначительно.

Таблица 38

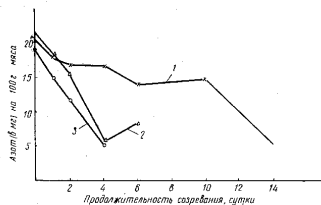
Фракции пуринового азота	Содержание в парном мясе	
	мг на 100 г	в % к сумме фракций
Нуклеотиды	19,40	74,6
Нуклеозиды (инозин)	1,39	4,0
Свободные пурины (общее количество)	6,06	21,4
в том числе гипоксантин	4,55	17,8
Сумма трех фракций	26,75	100,0

На рис. 55 приведены данные об изменениях азота нуклеотидов в процессе созревания мяса при различных температурных условиях, свидетельствующие о последовательном уменьшении их количества.

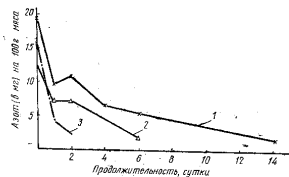
Как видно из рис. 55, в процессе созревания мяса происходит расщепление как адениловой, так и инозиновой кислот. При этом содержание адениловой кислоты последовательно уменьшается на всем протяжении процесса созревания, достигая в большинстве случаев остаточного количества 1,7—3,0 мг% к 14-ым суткам хранения мяса при 0°, к 6-ым суткам — при 8—10° С или к 4-ым суткам при 16—18° С.

Уменьшение количества инозиновой кислоты при этих условиях ускоряется только на конечных стадиях данного процесса, когда имеющиеся резервы адениловой кислоты уже в основном израсходованы.

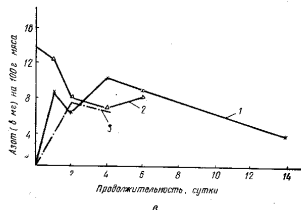
В результате этого в парном вареном мясе нуклеотиды содержатся главным образом в виде адениловой кислоты, в охлажденном мясе двухсуточного хранения после его тепловой обработки находятся как адениловая, так и инозиновая кислоты, а в вареном мясе, предварительно созревшем при разных температурных условиях, преобладает инозиновая кислота.



а



б

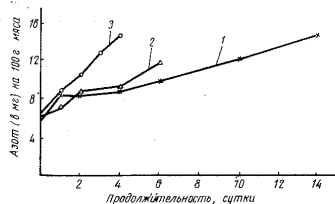


в

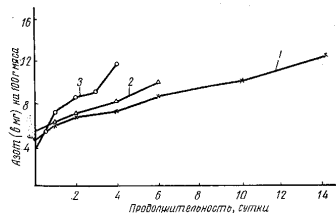
Рис. 55. Изменение азота нуклеотидов в процессе созревания мяса (Соловьев и сотрудники):
а — общего количества; б — адениловой кислоты; в — инозиновой кислоты: 1 — 0° С; 2 — 8—10° С; 3 — 16—18° С

Содержание нуклеозида инозина в вареном мясе на различных этапах процесса созревания при 0; 8—10 и 16—18° С представлены в табл. 39 (средние данные).

Как видно из этих данных, в процессе созревания мяса при указанных температурных условиях не происходит накопления



а



б

Рис. 56. Изменения азота свободных пуринов в процессе созревания мяса (Соловьев и сотрудники):
а — общего количества; б — гипоксантина: 1 — 0° С; 2 — 8—10° С; 3 — 16—18° С.

инозина: содержание инозина в мясе при 0; 8—10 и 16—18° С крайне незначительно и колеблется в пределах от 0,22 до 4,48 мг азота на 100 г мяса. При этом следует отметить отсутствие какой-либо зависимости изменений его количества в вареном мясе от продолжительности и температурных условий проведения процесса созревания.

Таблица 39

Продолжитель- ность созревания, сутки	Инозин (мг азота на 100 г мяса) при температуре созревания, °С		
	0	8—10	16—18
Парное	1,39	1,33	1,62
1	0,34	0,50	2,12
2	0,25	1,06	2,67
4	2,95	2,07	2,52
6	1,24	1,24	—
10	2,10	—	—
14	0,75	—	—

На рис. 56 показано, что количество азота свободных пуринов в процессе созревания мяса при всех изучавшихся температурных условиях последовательно увеличивается. Поэтому, например, на десятые сутки хранения при 0°С оно более чем в 2 раза превышает первоначальную величину.

Обращает на себя внимание приблизительно одинаковое содержание свободных пуринов в вареном мясе, предварительно созревавшем 10 суток при 0°С, 6 суток — при 8—10°С и 3 суток — при 16—18°С. Оно составляет по средним данным 11,5—12,5 мг%. Это является следствием значительного ускорения процесса их накопления по мере повышения температуры, при которой протекает созревание мяса.

Изменения количества азота свободного гипоксантина в процессе созревания мяса при различных температурных условиях (по средним данным) представлены в табл. 40.

Таблица 40

Продолжитель- ность созревания, сутки	Азот свободного гипоксантина (в % к общему азоту свободных пуринов) при температуре, °С		
	0	9—10	16—18
Парное	77,4	88,4	61,3
1	76,8	89,2	83,3
2	85,8	82,3	83,1
4	84,2	89,4	82,4
6	87,6	89,4	—
10	89,1	—	—
14	91,0	—	—

Приведенные в табл. 40 и на рис. 56 данные показывают, что главной частью фракции свободных пуринов на всех этапах процессов созревания мяса при изучавшихся температурных условиях является гипоксантин. В подавляющем большинстве слу-

чаев его содержание составляет 80—90% общего количества свободных пуринов. Количество гипоксантина непрерывно растет при увеличении продолжительности процесса созревания: оно удваивается по сравнению с его содержанием в парном мясе и достигает уровня 9—10 мг %, если мясо хранят 10 суток при 0°С или 6 суток при 8—10°С, или 3 суток при 16—18°С.

Сопоставление полученных нами данных о распаде в процессе созревания мяса адениловой кислоты, сопровождающимся накоплением свободных пуринов, с приведенными в табл. 20, 21, 22 результатами опытов об изменениях при этом органолептических показателей позволяет сделать вывод: распад аденин-нуклеотидов с образованием инозиновой кислоты и свободного гипоксантина происходит параллельно с процессом улучшения вкусовых и ароматических свойств созревающего мяса и полученного из него бульона. Необходимо также обратить внимание, что приведенные выше данные о незначительном содержании инозина на различных этапах процесса созревания мяса (исследовалось вареное мясо) не совпадают с результатами опытов Керра и Серайдарьяна [125] о его накоплении при автолизе мышечной ткани (исследовалась неподвергавшаяся тепловой обработке мышечная ткань). Очевидно при тепловой обработке мяса, когда наблюдается проявление его вкусовых и ароматических свойств, происходит почти полное связывание инозина другими компонентами мышечной ткани (например, аминокислотами) или расщепление на гипоксантин и рибозу. В последнем случае эта реакция может протекать как первая стадия процесса меланоидинообразования и образующаяся свободная рибоза будет соединяться с продуктами протеолиза — аминокислотами и пептидами. При этих условиях количество свободного гипоксантина является косвенным показателем накопления в подвергнутом тепловой обработке мясе вкусовых и ароматических продуктов.

Таким образом, данные о роли продуктов распада инозиновой кислоты в образовании специфических вкуса и аромата подвергнутого тепловой обработке созревающего мяса не противоречат точке зрения об ответственности за это явление компонентов, продуцируемых сахароаминной реакцией.

В табл. 41 приведены полученные нами средние данные о суммарном содержании в мясе различной степени зрелости азота нуклеотидов, нуклеозидов и свободных пуринов.

На основе экспериментального материала можно констатировать, что главный путь распада нуклеотидов в мясе в процессе его созревания проходит по следующей схеме:

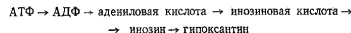


Таблица 41

Мясо	Температура хранения, °С	Содержание азота трех фракций пуринового азота, мг %
Парное	—	26,75
Двухсуточное	0	25,16
»	8—10	25,42
Десятисуточное	0	27,22
Шестисуточное	8—10	22,39

Если принять во внимание, что парное мясо крупного рогатого скота содержит около 160 мг% АТФ, то за ее счет должно быть отнесено около 18 мг% пуринового азота парного мяса. Следовательно, главным источником образования инозиновой кислоты, инозина и свободного гипоксантина при созревании мяса следует считать распад содержащейся в мышцах АТФ.

Из данных табл. 41 следует вывод: при созревании не наблюдается сколько-нибудь значительного накопления в вареном мясе экстрактивного пуринового азота за счет расщепления нуклеопротеидов, ферментов и других соединений, содержащих пурины в связанной с белками форме.

Нами впервые были получены данные о перераспределении пуринового азота по фракциям, а также о параллелизме между этими изменениями (распаде адениннуклеотида и соответствующее увеличение количества инозиновой кислоты и гипоксантина и улучшением вкусовых свойств мяса при его созревании в производственных условиях [60, 61].

Эти результаты неоднократно проверялись с положительными результатами многими исследователями. Так, Дворжак [101], Кассемсари и сотрудники [124] подтвердили наши данные о том, что при хранении мяса распад адениннуклеотидов идет через стадии инозиновой кислоты и инозина и заканчивается образованием свободного гипоксантина.

Говард, Ли и Вебстер [116] подтвердили факт наличия корреляции между изменениями нуклеотидов и органолептической характеристикой мяса при его созревании, указав, что накопление гипоксантина в процессе хранения мяса служит показателем, характеризующим степень его созревания.

Батцлер, Санторо и Ландманн [87] в 1962 г. нашли, что некоторые так называемые предшествующие вкуса и аромата говяжьего мяса являются относительно простой смесью глюкозы, инозиновой кислоты и глюкотеида. По их данным вместо инозиновой кислоты можно взять инозин и неорганический фосфат.

Июшида и Кагеяма [183] установили, что добавление к мясу и другим пищевым продуктам диатриевой соли инозиновой кис-

лоты значительно улучшает их вкусовые свойства и рекомендовали ее использовать в качестве пищевой приправы. По сообщению Титуса и Клис [174], диатриный инозинат в настоящее время в Японии изготавливается в производственных условиях и успешно применяется в пищевой промышленности.

Вуд [182] отметил значение инозиновой кислоты для вкусовых свойств мясного экстракта. Как сообщают Титус и Клис [174], органолептические испытания большого числа пищевых продуктов, к которым добавлялись диатриевые соли инозиновой и гуаниловой кислот, дали возможность прийти к следующим выводам.

а) Эти нуклеотиды, подобно моноглутаминату натрия, являются усилителями вкусовых свойств многих пищевых продуктов, видоизменяя эти свойства.

б) Соли этих кислот более активны, чем моноглутаминат натрия. В большинстве случаев их следует применять в количестве 1:10000 при расчете на вес готового к употреблению продукта.

в) Воздействие, вызываемое диатриевыми солями инозиновой и гуаниловой кислот, направленное на улучшение вкусовых свойств продуктов, является совершенно особым и отличается от того, которое вызывает моноглутаминат натрия. Когда они применяются в сочетании с последним, то дополняют друг друга. Оптимальные результаты получаются при употреблении умеренных количеств глютамината в комбинации с минимальными количествами нуклеотидов.

г) Эффект от их добавления в значительной мере зависит от особенностей пищевого продукта, например, в одном может усилиться ощущение солености, а в другом оно будет подавляться.

д) Для инозината и гуанилата характерна способность подавлять многие нежелательные вкусовые свойства, такие как металлический привкус в консервах, горький и сернистый привкусы многих других пищевых продуктов.

е) Характерное свойство инозината и гуанилата — придание супам и бульонам специфического вкуса мяса. Поэтому они оцениваются как заменители мясного экстракта.

Для большинства случаев применения необходимого уровня их концентрации в готовом к употреблению продукте находится в пределах от 0,005 до 0,03%. Инозинат и гуанилат вызывают идентичный эффект, но второй из них в несколько раз более активен, чем первый. Из всех содержащихся в нуклеиновых кислотах нуклеотидов только инозиновая и гуаниловая кислоты обладают указанными выше вкусовыми свойствами.

Промышленный метод получения инозината и гуанилата включает в себя регулируемое деградацию нуклеиновых кислот, выделенных из таких натуральных источников, как дрожжи *Torula*. В последние годы в США фирмой «Merck» налажено

промышленное производство смеси диатриевых солей инозиновой и гуаниловой кислот, выпускаемой под торговым названием «МЕРТАЗА-Р». Этот препарат в настоящее время применяется в пищевой промышленности США в качестве приправы к пищевым продуктам.

Следует обратить внимание на один весьма существенный, но не нашедший до сих пор объяснения факт.

По данным Остерна [149, 150], в поступившем к нему на исследование с рынка сыром говяжьем мясе (очевидно, прошедшем стадию развития окоченения) содержится в среднем около 136 мг % инозиновой кислоты (21,7 мг % азота гипоксантина, находящегося во фракции нуклеотидов).

По данным Титуса и Клиса [174], это количество во много раз превышает концентрацию, необходимую для проявления инозиновой кислотой своих специфических вкусовых свойств (максимальная доза — 30 мг %).

Однако, несмотря на это, сырое мясо не обладает специфическими вкусовыми свойствами продукта, готового к употреблению в пищу. Эти свойства проявляются только при тепловой обработке мяса. Такое несоответствие может быть объяснено разными причинами. В сыром мясе инозиновая кислота может быть связана с другими компонентами (например, белками) в виде неустойчивого комплекса, разрушающегося при тепловой обработке; с другой стороны, возможно, что для проявления вкусовых свойств инозиновой кислоты необходимо, чтобы при тепловой обработке она или продукт ее распада инозин — вступили во взаимодействие с аминокислотами.

Возражением против первого предположения являются наши данные о том, что вареное говяжье мясо, прошедшее стадию окоченения, содержит только 50—60 мг % инозиновой кислоты, т. е. менее половины того количества, которое указывается Остерном [149, 150] для сырого мяса. Следовательно, при тепловой обработке инозиновая кислота не освобождается из связанного состояния, а частично исчезает из мяса.

Исходя из этих данных, следует допустить большую вероятность второго предположения.

Так или иначе можно считать доказанным выдвинутое нами положение о значении инозиновой кислоты или продуктов ее распада в улучшении вкуса созревающего мяса.

Кроме того, последние исследования свидетельствуют об участии в нем также и гуаниловой кислоты.

ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕТАЧИХ РЕДУЦИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ МЯСА

Количество летучих редуцирующих веществ подвергается весьма интересным изменениям в процессе созревания мяса при различных температурных условиях (рис. 57).

Содержание летучих редуцирующих веществ в парном вареном мясе составляет в среднем 3,19 мэкв при минимуме 2,56 и максимуме 3,92.

По истечении первых суток хранения мяса при 0° С их количество резко уменьшается до 1,69 мэкв (по средним данным) при минимуме 1,62 и максимуме 1,78. Процесс уменьшения количества летучих редуцирующих веществ продолжается до конца вторых суток хранения, когда эта величина достигает своего минимального значения — 1,26—1,40 мэкв.

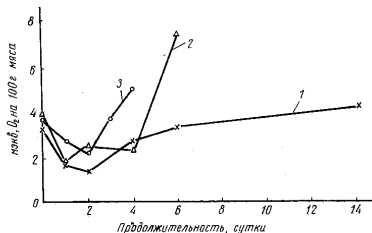


Рис. 57. Изменения количества летучих редуцирующих веществ вареного мяса в процессе созревания, предшествующего варке при различных температурах (Соловьев и сотрудники): 1 — 0°С; 2 — 8—10°С; 3 — 16—18°С.

После этого начинается процесс накопления летучих редуцирующих веществ, продолжающийся до 14 суток хранения: 2,64 мэкв на 4-е сутки, 3,38 мэкв на 6-е сутки и 3,83—4,57 мэкв на 14-е сутки.

Наблюдаемая нами в процессе созревания мяса при 0° С закономерность сохраняется и в том случае, если этот процесс проводится при повышенных температурах (8—10° С или 16—18° С) с той только разницей, что во втором случае их накопление на втором этапе созревания проходит значительно более интенсивно. В результате этого уже на четвертые сутки созревания при 8—10° С их количество (по средним данным) достигает 4,29 мэкв на 100 г мяса, а на третьи сутки хранения при 16—18° С — 3,69 мэкв.

Эти факты свидетельствуют о том, что в процессе созревания мяса, по-видимому, происходит смена состава летучих редуци-

рующих веществ: одни вещества исчезают из мяса, после чего в нем начинают накапливаться другие. Этот вывод хорошо согласуется с наблюдениями практиков о том, что парное мясо имеет специфический неприятный запах, который при хранении исчезает и сменяется специфическим ароматом зрелого мяса.

Интенсивность процессов накопления летучих редуцирующих веществ во второй фазе созревания находится в прямой зависимости от температуры хранения мяса: количество ЛРВ оказывается приблизительно одинаковым на 1-й день хранения при 0° С, 4-й день — при 8—10° С и 3-й день — при 16—18° С.

Сопоставляя эти данные с приведенными в табл. 21, 22 и 23 результатами органолептической оценки, необходимо сделать следующий вывод: ароматические свойства вареного мяса и бульона улучшаются по мере накопления в нем летучих редуцирующих веществ во второй фазе созревания.

ИЗМЕНЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ МЯСА В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ

Сведения о том, как влияет процесс созревания на содержание витаминов в мясе, ограничены. Так, Раис, Сквайрс и Фрайд [156] сообщают об отсутствии каких-либо изменений тиамина, ниацина и рибофлавина в неповрежденных мускулах свиньи при их хранении в течение двух недель при 4° С. Швейгерт и сотрудники [162] в основном подтвердили эти данные, установив, что в несоленом свином окороке после хранения при тех же условиях сохраняются 92% исходного содержания тиамина и ниацина и 88% рибофлавина. Мейер, Томас и Бакли [141] исследовали изменения витаминов при созревании мяса крупного рогатого скота, полученного от животных травяного и зернового откорма. Авторы установили увеличение на 18% количества тиамина вне зависимости от типа откорма к концу 3-й недели созревания. Созревание в течение 42 дней не оказывает никакого влияния на содержание рибофлавина. Через 7 дней хранения говяжьего мяса количество в нем ниацина уменьшается приблизительно на 25—30%. Остается невыясненным, за счет чего следует отнести отмеченную разницу между свиной и говяжьей.

Установлено [1, 20, 21], что созревание мяса увеличивает степень его усвояемости и перевариваемости *in vitro* пепсином.

По мере созревания мяса, как показал Арутюнян [1], повышаются его сокогонные свойства, в результате чего сокращается скрытый период желудочного сокоотделения с 17 мин для мяса односуточного хранения до 8 мин для того же мяса через 7 дней созревания.

При этом общая кислотность желудочного сока и содержание в нем свободной HCl увеличиваются соответственно с 2,0—2,5

до 2,75—3,00%. В результате этого созревшее мясо быстрее переваривается в желудке (6 ч 30 мин для односуточного мяса и 4 ч 07 мин для десятисуточного). Лазарев [20, 21] показал, что после созревания мясо значительно легче поддается гидролизу пепсином. Определяя *in vitro* интенсивность гидролиза мяса пепсином по накоплению биуретовых продуктов распада и выражая их количества в величинах экстинкции, автор установил, что с увеличением продолжительности хранения мяса до 13 суток величина экстинкции, равная для парного мяса 0,06, увеличивается более чем в 2 раза, т. е. до 0,14. Вместе с этим им показано, что мясо в состоянии окоченения имеет минимум перевариваемости пепсином. Даже через двое суток хранения интенсивность гидролиза охлажденного мяса была меньше, чем парного.

Таким образом, находящееся в состоянии окоченения мясо, в том числе и охлажденное, имеет меньшую пищевую ценность, чем созревшее в течение 4—11 суток или парное.

На основании всего приведенного материала можно сделать ряд обобщений о процессе созревания мяса.

По ряду биохимических, морфологических и органолептических показателей этот процесс представляет собой две отдельные фазы. В первой фазе (начало 1,5—3,0 ч, конец 1—2 суток после убоя) изменения, вызывающие окоченение, преобладают над теми, которые приводят к увеличению нежности мяса. Во второй фазе (начало 1—2 суток, конец 10—12 суток созревания при 0—4° С или 5—6 суток при 8—10° С) превалирующее значение приобретают процессы деструкции, обуславливающие значительное улучшение органолептических свойств продукта.

Содержание связанной воды является минимальным в мясе, находящемся в состоянии послеубойного окоченения. Во второй фазе наблюдается увеличение степени гидратации мяса, сопровождающееся повышением его нежности, измеренной при помощи объективных методов и путем органолептической оценки.

При послеубойном окоченении мяса крупного рогатого скота падает растворимость белков фракции миозина. По истечении первых суток хранения мяса после убоя животного начинается последовательное нарастание величины этого показателя, продолжающееся до 6 суток хранения при 0° С.

При созревании мяса в экстракте не обнаруживается высокоактивный актомиозин. Начиная с шестых суток хранения при 0° С, экстрагируемый миозин совершенно не связан с актином в комплекс.

Момент перехода извлекаемого актомиозина в диссоциированную на актин и миозин форму не совпадает с органолептическими данными о сроках достижения мясом наибольшей нежности. Распад актомиозина на актин и миозин не может рас-

смагиваться как главная и единственная причина увеличения нежности в процессе созревания мяса.

Белки извлекаемой фракции миозина парного, охлажденного и созревшего мяса отличаются друг от друга по содержанию N-концевых групп.

Белки фракции миозина, выделенные из мяса сразу же после убоя животного, содержат только следы или крайне незначительные количества N-концевых групп. При созревании в белках фракции миозина появляются и накапливаются N-концевые группы ряда аминокислот. Это накопление тем больше, чем глубже прошел процесс созревания.

Среди N-концевых аминокислот белков фракции миозина охлажденного и созревшего мяса большинство (70—80%) составляют группы лейцина и дикарбоновых кислот. Кроме того, имеются также концевые группы аланина, глицина, серина, треонина, тирозина и валина.

Хранение мяса в стерильных условиях (облученного) по образованию и накоплению в белках фракции миозина N-концевых групп не отличается от процесса созревания мяса в производственных условиях. Следовательно, в том и в другом случаях этот процесс чисто автолитический.

Накопление в белках фракции миозина N-концевых групп свободных аминокислот и небелкового азота в мясном экстракте указывает на то, что основной процесс, протекающий при созревании мяса органолептически воспринимаемый как уменьшение жесткости мяса, следует рассматривать как начальную стадию протеолиза.

Общее количество кальция в мышечной ткани увеличивается в среднем на 18%, очевидно, за счет его частичного перехода из соединительной ткани.

Предполагается, что увеличение количества свободных аминных и карбоксильных групп в белках фракции миозина приводит к связыванию этими белками катионов (в первую очередь кальция).

Лабильность компонентов внутримышечной соединительной ткани изменяется на протяжении изучавшегося периода хранения мяса:

а) после двухсуточного хранения отмечена значительно более низкая по сравнению с установленной для парного мяса лабильность фибриллярных компонентов и основного вещества внутримышечной соединительной ткани;

б) во второй стадии (при хранении в течение 6 суток при температуре 8—10° С), когда в мясе преобладают автолитические процессы, приводящие к разрушению составных частей животной ткани, лабильность фибриллярных белков и основного вещества внутримышечной соединительной ткани снова возрастает вместе с увеличением нежности и гидратации мяса.

162

111

Величина развариваемости коллагена внутримышечной соединительной ткани после минимальной точки на вторые сутки хранения (по наблюдавшимся нами срокам) вновь возрастает к концу опытного хранения.

Количество основного вещества, определяемого как гексозаминсодержащие соединения, нерастворимые при солевой экстракции, увеличивается на вторые сутки хранения (по сравнению с его количеством в парном мясе) и вновь уменьшается к концу опытного хранения.

Изменения в основном веществе внутримышечной соединительной ткани во второй фазе созревания протекают по следующей схеме:

Труднорастворимая фракция основного вещества → Легкораствораемая фракция основного вещества → Фракция гексозаминсодержащих соединений мышечной плазмы

На увеличение нежности и гидратации мяса в процессе его созревания оказывают влияние следующие факторы:

а) диссоциации актомиозина на актин и миозин и связанное с этим увеличение растворимости белков фракции миозина;

б) протеолитические процессы, приводящие к разрыву пептидных связей в молекулах белков фракции миозина и к образованию и накоплению в них свободных аминных и карбоксильных групп;

в) связывание катионов (в первую очередь калия) образующимися в результате протеолиза свободными карбоксильными группами белков фракции миозина;

г) увеличение развариваемости коллагена, обусловленное повышением лабильности фибриллярных компонентов и основного вещества внутримышечной соединительной ткани;

д) уменьшение во внутримышечной соединительной ткани количества основного вещества за счет частичного перехода присутствующих в нем гексозаминсодержащих компонентов в мышечную плазму.

В течение всего процесса созревания мяса наблюдается распад содержащихся в нем нуклеотидов (адениловой и инозиновой кислот), сопровождающийся накоплением свободных пуринов.

Распад нуклеотидов протекает по следующей схеме:

АТФ → АДФ → АМФ → ИМФ → инозин → гипоксантин

Главной составной частью фракции свободных пуринов на всех этапах является гипоксантин.

По мере повышения температуры созревания от 0 до 16—18° С скорость распада нуклеотидов и накопления свободных пуринов увеличивается.

По мере распада адениннуклеотидов и увеличения в мясе содержания свободного гипоксантина улучшаются вкусовые свойства вареного мяса и бульона. Количество свободного гипоксантина может служить косвенным показателем улучшения вкусовых свойств созревающего мяса. Мясо становится зрелым, когда в нем количество азота свободного гипоксантина достигает 9—10 мг %.

В процессе созревания мяса происходит смена состава содержащихся в нем летучих редуцирующих веществ (резкое уменьшение их количества на первые или вторые сутки хранения и последовательное увеличение их количества во второй фазе). Накопление летучих редуцирующих веществ в этой фазе протекает тем быстрее, чем выше температура созревания. Это накопление сопровождается улучшением ароматических свойств созревающего мяса. При содержании в мясе 3,5—4,0 мэкв ЛРВ на втором этапе созревания мясо становится зрелым.

Между биохимическими показателями, характеризующими нежность созревающего мяса, и картиной структуры тканей, наблюдаемой при этом под микроскопом, существует определенная взаимосвязь.

Улучшение консистенции мяса связано с происходящими в нем автолитическими (протеолитическими) изменениями миофибриллярных белков и компонентов внутримышечной соединительной ткани. Поэтому одним из наиболее эффективных методов интенсификации процесса улучшения консистенции должна являться обработка препаратами таких протеолитических ферментов, которые воздействуют как на мышечную, так и на соединительную ткань.

На основании органолептических, биохимических и микроскопических показателей установлены оптимальные сроки созревания, гарантирующие максимальную нежность мяса и его наилучшие вкусовые и ароматические качества: при температуре 0° С—10—12 суток, 8—10° С—5—6 суток, 16—18° С—3 суток.

УСКОРЕННЫЕ СПОСОБЫ СОЗРЕВАНИЯ МЯСА

Многими исследователями были предприняты попытки разработать условия для ускорения процесса созревания. При этом в первую очередь обращалось внимание на нежность мяса, как главный показатель. Исходя из теоретических основ этого процесса, возможны следующие пути интенсификации улучшения консистенции мяса при его созревании.

1. Предупреждение (торможение) наступления или развития послеубойного окоченения.
2. Ускорение развития послеубойного окоченения.
3. Ускорение процессов, вызывающих расслабление послеубойного окоченения.

Учитывая ферментативную природу процессов развития и расслабления послеубойного окоченения, большое внимание уделялось изменению температуры.

Принимая во внимание биохимическую сущность процесса увеличения нежности мяса при его созревании, многие авторы предлагали проводить обработку мяса растворами минеральных солей для сдвига в желаемую сторону ионного равновесия. Кроме того, учитывая роль протеолитических ферментов мышечной ткани в улучшении консистенции мяса при его созревании в естественных условиях, были разработаны способы искусственного введения препаратов различных протеолитических ферментов. Ввиду обширности материала по этому вопросу последний способ интенсификации процесса улучшения консистенции при созревании мяса будет рассмотрен в следующей главе.

МЕТОДЫ, ОСНОВАННЫЕ НА ТОРМОЖЕНИИ РАЗВИТИЯ ПОСЛЕУБОЙНОГО ОКОЧЕНЕНИЯ

Адренализация убойного скота

Как известно, введение в организм животных адреналина вызывает раздражение сахарного центра — дна IV желудочка и влечет за собой процесс распада гликогена, гипергликемию, глюкозурию.

В связи с этим были предприняты обширные исследования (13, 14, 35, 55) о влиянии предубойного введения различных доз адреналина на течение процесса автолиза в мышечной ткани кроликов, овец, свиней, крупного рогатого скота и лошадей. Опыты показали, что введение адреналина (крупному рогатому скоту 300 мг на 1 кг живого веса за 3 ч до убоя) приводит к значительным изменениям в течении процессов обмена веществ в организме животных и автолиза мышечной ткани после прекращения жизни. И те и другие изменения обуславливают отсутствие или торможение развития послеубойного окоченения. После введения адреналина у животных было обнаружено [13, 14] большое увеличение содержания в моче глюкозы и неорганического фосфора, которое указывает на интенсивное течение при жизни животного процесса распада гликогена. В результате этого мясо адренилизованных животных почти совершенно не содержит гликогена, имеет очень небольшое количество молочной кислоты, высокий уровень pH (6,4—6,9). По своей консистенции оно нежное. Авторы [35, 55] также отмечают снижение активности протеолитических ферментов мышечной ткани. Кроме того, введение крупному рогатому скоту указанной дозы адреналина приводит к уменьшению содержания фосфора АТФ через 1,5 ч после убоя до 9—10 мг% по сравнению с 14,5 мг% в контрольных образцах [13, 14]. Эти нарушения в течении процессов гликолиза вызывают в свою очередь значительное увеличение в мясе количества растворимых белков фракции миозина (800—850 мг% по сравнению с 660 мг% для контрольных образцов) через 2 суток после убоя. Высокое содержание растворимых белков фракции миозина указывает на невозможность образования при этих условиях значительного количества нерастворимого актомиозинового геля, который является непосредственной причиной окоченения мышц.

ДЕМОТАЦИЯ УБОЙНОГО СКОТА

Бельским [1] был предложен новый технологический прием обработки скота перед убоем, основанный на применении биологически активных химических соединений, который получил название демотации животных. Цель демотации — исключить движения у скота перед убоем и вызвать сдвиг обменных процессов. Благодаря этому обеспечивается полное снятие или резкое снижение послеубойного окоченения.

Для демотации убойного скота применяется комплексный биохимически активный препарат короткого действия демотин. В его состав входят: диацетилхолинйодид, α-метиламиноэтанолпирокатехин и некоторые другие компоненты, создающие пригодную форму для его применения и расширяющие диапазон его метаболического действия. Компоненты, входящие в состав

демотина, очень быстро исчезают из тканей организма. Препарат, введенный животному накануне забоя, полностью разрушается ферментативными системами организма к моменту разделки туш. В результате этого в мясе и мясопродуктах его компоненты не обнаруживаются ни химическими, ни биологическими методами. Поэтому мясо и субпродукты демотированных животных безвредны.

В предубойном периоде демотация ведет к значительному усилению окислительных процессов в мышцах и тканях органов, ускорению гликолитического распада гликогена (рис. 58).

Наряду с этим изменяется уровень АТФ в мышцах и повышается выведение из организма неорганического фосфата. В по-

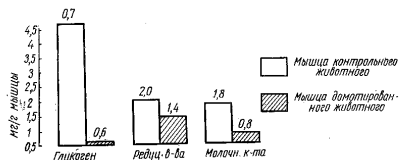


Рис. 58. Метаболические сдвиги в мышечной ткани при демотации (Бельский).

слеубойном периоде демотация ведет к значительному снижению уровня молочной кислоты, высокому значению pH, относительно устойчивому содержанию АТФ в мышечной ткани, АТФазная активность миозина и распад АТФ в мышцах заторможены. В результате этого не происходит реакции соединения актина и миозина с образованием труднорастворимого актомиозинового комплекса, который обуславливает наступление послеубойного окоченения. Мясо животных, подвергнутых демотации, даже в срок максимального окоченения, сохраняет свою нежность и высокую степень гидратации. При дальнейшем хранении такое мясо оказалось более устойчивым по сравнению с контрольными образцами. Эти свойства препарата демотина обеспечивают значительные преимущества демотации животных по сравнению с их адренилизацией.

МЕТОДЫ, ОСНОВАННЫЕ НА УСКОРЕНИИ РАЗВИТИЯ ПОСЛЕУБОЙНОГО ОКОЧЕНЕНИЯ

Рошен и Рамсботтом [40] предложили немедленно после разделки выдерживать горяче-парные туши убойных животных в течение 4—5 ч в камерах, имеющих относительную влажность воз-

духа около 90% и температуру 37° С. За это время заканчивается развитие оковения и рН мышечной ткани снижается до 5,4—5,6. После этого туши охлаждаются до 1,1° С. Авторы считали, что это должно было привести к ускорению процесса расслабления оковения. Однако из их же данных вытекает, что опытные образцы мяса были более нежными по сравнению с контрольными только через 1 сутки после убоя животного. При увеличении сроков хранения до 3—5 и 6 суток это различие выравнивалось, т. е. ускорение развития оковения приводило к замедлению его расслабления.

Был также предложен [10, 12, 51] метод глубокого прогревания мышечной ткани до 39—40° С токами высокой частоты с последующим диатермическим поддержанием этой температуры. По истечении определенного времени мясо охлаждалось. Как было показано авторами, при воздействии токов высокой частоты (39 мГц) за счет более быстрого и равномерного прогрева всей массы мышц в мясе значительно ускоряются гликолитические процессы. В результате этого к 4-му часу достигается максимум содержания молочной кислоты, редуцирующих углеводов и минимум рН.

Мясо, сваренное после 4-часовой обработки ТВЧ, менее жестко, чем исходное, а после 8 ч его нежность достигает уровня, характерного для мяса 3-суточного хранения в обычных условиях на холодильнике. К сожалению, авторами не были поставлены опыты по дальнейшему холодильному хранению мяса, обработанного ТВЧ, поэтому остается невыясненным, сохраняется ли при этом отмеченная выше разница в его нежности.

В США были также запатентованы [28, 38] способы ускоренного созревания мяса, заключающиеся в электрическом возбуждении мышечной ткани не более чем через 1 ч после убоя (желательно до сьемки шкуры), с последующим охлаждением его в обычных условиях. Электрическое возбуждение вызывает быстрое наступление оковения, сопровождающееся сдвигом рН в кислую сторону в течение 3 ч.

Согласно этим предложениям, туша обрабатывается переменным током с частотой от 10 до 150 импульсов в секунду (в среднем 60 циклов в секунду). При этом напряжение тока должно быть достаточно высоким, чтобы преодолеть сопротивление тканей. Напряжение в 40—50 в уже вызывает стимулирующее действие, но для лучшего распределения тока предпочтительнее напряжение от 100 до 3000 в. По этому способу один электрод стабильно прикладывается к задней ноге, а второй, передвижной — к передней ноге, шее и другим частям туши. По заявлению авторов, мясо, обработанное таким методом, через 2 суток хранения на холодильнике при 0,6—1,6° С достигает нежности, характерной для трехнедельного созревания при тех же температурных условиях. Как было отмечено выше, в противополож-

ность этому Де-Фремери [23] считает, что обработка электрическим током парных тушек пилл задерживает в них процесс расслабления оковения и делает мясо более жестким.

МЕТОДЫ, ОСНОВАННЫЕ НА УСКОРЕНИИ ПРОЦЕССА РАССЛАБЛЕНИЯ ОКОВЕНИЯ

Сморodinцев и его сотрудники [15] нашли, что созревание мяса при температуре 36°С происходит значительно быстрее, чем при 4° С, но при этой температуре трудно разграничить этот процесс от процесса порчи. Поэтому в дальнейших исследованиях было обращено основное внимание на изыскание таких возможностей предотвращения роста микрофлоры, которые бы позволили повысить температуру созревания. Были установлены [18] оптимальные условия проведения созревания в интервале от 0 до 17—18°С. Позже проводились опыты [21] по определению наилучших условий для быстрого размягчения при созревании говяжьего мяса низших категорий сортировки при разных температурных условиях: 1,7; 15,6; 32,2; 43,3°С. Развитие микроорганизмов в мясе при этих температурах тормозилось понижением рН, применением антибиотиков, гамма-излучений ультрафиолетовых лучей. Наибольший эффект дает применение антибиотиков, хотя некоторые авторы [33, 39] отдали предпочтение лампам ультрафиолетового излучения. Мясо, выдержанное в течение 1 суток при 32,2° С, не показало никакой значительной разницы в нежности с контрольным образцом. Дальнейшее увеличение продолжительности выдержки при этой температуре оказалось нецелесообразным, так как плохо подавляется развитие микрофлоры. Более существенный результат был достигнут при 43,3° С.

УСКОРЕННОЕ СОЗРЕВАНИЕ ПРИ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ УФЛ

Теоретическое обоснование применения ультрафиолетовых лучей при обработке и хранения пищевых продуктов было дано в работах Головкина [4—7]. Из наблюдений автора можно заключить, что не все бактериальные клетки, даже одной и той же культуры, одинаково сопротивляются воздействию ультрафиолетового излучения. Отмирание бактериальных клеток находится в полулогарифмической зависимости от количества лучевой энергии, причем основная их масса (до 70—80%) погибает почти при постоянном количестве энергии. Оставшиеся бактерии более стойкие и для их отмирания требуется в 3—4 раза больше энергии, чем для разрушения основного количества.

Для достижения одного и того же бактерицидного эффекта для разных видов бактерий требуется различное количество лучевой энергии.

У плесневых грибов при развитии их вегетативной формы стадия споронирования более устойчива к воздействию УФЛ, чем спорная [7]. Положительная температура около 0°С способствует более эффективному применению УФЛ, так как при этих условиях споры плесени менее устойчивы к облучению, чем при относительно высокой (18—20°С) или отрицательной температуре. Кроме того, эффект воздействия на плесневые грибы одного и того же количества лучевой энергии, использованной по частям или сразу, одинаков.

При этом эффективность облучения находится в обратной зависимости от степени обсеменения и потомство, получаемое от предварительно облученных культур, обладает большей способностью сопротивления воздействию лучевой энергии.

Весьма важен также вывод автора о том, что поверхность продукта при воздействии на него УФЛ приобретает на некоторый срок бактерицидные свойства. Этот срок определяют температурные условия. Таким образом, даже одно предварительное облучение создает условия для удлинения сроков хранения охлажденных продуктов.

Автором было также доказано, что периодически облучаемое охлажденное мясо сохранялось вдвое дольше, чем необлученное. Отсюда был сделан вывод: мясо можно охлаждать до более высокой температуры (7—8°), при которой будет протекать его созревание.

Данилов [8] также предлагает использовать УФЛ в пищевой промышленности и в торговой сети для удлинения сроков хранения скоропортящихся продуктов.

Следует иметь только в виду, что большие дозы УФЛ оказывают особо сильное действие на жиры [4], окисление и распад которых резко ухудшает вкусовые и пищевые достоинства продуктов. Однако в течение 8 дней хранения мяса при 2,5—5,0°С ультрафиолетовое облучение не оказывает заметного влияния на перекисные числа жира [34].

Выполненными экспериментами [16, 18] было показано, что при температуре 17°С и периодическом облучении поверхности мяса ультрафиолетовыми лучами не наблюдается развития микрофлоры, мясо сохраняет свою свежесть, а процессы созревания при этом значительно ускоряются. Существо всех предложений [2, 5, 6, 16, 18, 26, 31, 37, 39, 44, 46] по ускоренному созреванию с применением УФЛ сводится к следующему: при повышенной температуре (от 7 до 20°С) ускоряется процесс улучшения консистенции мяса при его созревании; высокая влажность воздуха в камере (от 80 до 95%) предохраняет продукт от излишней усушки; ультрафиолетовая радиация бак-

терицидными лампами, излучающими свет при длине волны 2500—3000 Å и малоизлучающими инфракрасные лучи, уменьшает рост плесени и микроорганизмов.

При этих условиях продолжительность созревания сокращается до 3—4 дней вместо 14 дней при температуре 1—4°С.

Примером осуществления в производственных условиях метода ускоренного созревания мяса при его облучении УФЛ является «тендерей-процесс» (США). Созревание происходит в

течение 3 суток в камере при температуре 15,6°С, относительной влажности воздуха около 90% и концентрации ультрафиолетовой радиации 150 мквт на 1 см² поверхности продукта [2, 39, 44, 46].

При этом было установлено, что ограничение времени ультрафиолетовой радиации путем экспозиции продукта через 12-часовые интервалы обеспечивает более удовлетворительное его состояние (цвет) и устраняет прогоркание жира.

Лампы подвешивают в шахматном порядке между подвесными путями или выше их на 0,3 м. При этом количество ламп зависит от высоты камеры. Так, например, интенсивность облучения пола в камере с высотой подвесных путей 3,2 м составляет лишь 1/16 интенсивности, достигаемой в камере с высотой подвесных путей 2,4 м.

После окончания процесса созревания мясные полутопи, четвертины или отруба помещают в камеру для быстрого охлаждения, имеющую температуру около 0,6°С. В случае необходимости хранения созревшего мяса производится в камере при температуре 2,2°С и относительной влажности воздуха 85—90%.

Достижимые при осуществлении данного процесса результаты в органолептической оценке продукта представлены на рис. 59.

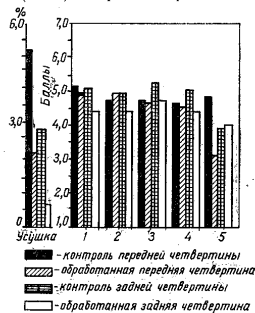


Рис. 59. Влияние условий окружающей среды при созревании на усушку и органолептические показатели мяса (Слит, Келли и Бреди):

1 — сухость; 2 — вкус; 3 — цвет; 4 — сочность; 5 — вкус и аромат жира.

Из них можно определить, что созревание в течение 3 дней при 20° С по сравнению со старым, неинтенсифицированным процессом, проводившимся при 4,4° С в течение 14 дней, обеспечивает значительное уменьшение усушки, лучшую нежность и несколько более высокий аромат продукта. При этом вкус и аромат жира в этих двух случаях проведения процесса получаются одинаковыми. Размеры потерь при варке и дефростации также почти не отличаются. Но новый процесс дает продукт с несколько менее выраженным вкусом мышечной ткани и меньшей сочностью мяса передних четвертей.

Однако даже при сокращении продолжительности процесса созревания до 3—4 суток площади производственных помещений с кондиционированием температуры и влажности воздуха должны быть увеличены в 2 раза по сравнению с размерами камер охлаждения. Это вызвало бы необходимость коренной реконструкции предприятий мясной промышленности. Кроме того, значительно осложнилась бы эксплуатация остьовочных камер, так как ультрафиолетовые лучи небезвредны для человека. Следовательно, требуется изыскание путей дальнейшей интенсификации процесса созревания.

УСКОРЕННОЕ СОЗРЕВАНИЕ ПРИ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ АНТИБИОТИКОВ

Изучалась возможность применения тетрациклиновых антибиотиков для подавления развития микроорганизмов в процессе созревания при повышенной температуре [45, 46, 48, 52, 53, 54]. Было установлено, что внутримышечные инъекции окситетрациклина давали неудовлетворительные результаты, так как вызывали заметное пожелтение мышечной ткани и некротические условия ее омертвления в боковой части туши. Удобнее и быстрее делать внутримышечные инъекции антибиотика в хвост за 2—3 ч до убоя животного. Для инъекции применялся раствор окситетрациклина в смеси с лимонной кислотой, обеспечивающий уровень антибиотика в тканях 0,05—0,10 мг% [53]. Для этого разными авторами рекомендуется доза антибиотика от 0,5—0,8 до 10—20 мг на 1 фунт живого веса животного (45, 54).

Для более эффективного подавления микрофлоры предложено [46, 52] перед созреванием при 32—43° С проводить комбинированную обработку бифтексов антибиотиками и низкими дозами ионизирующих излучений (45500 рад). Для предохранения от развития микроорганизмов, плесени и дрожжей на поверхности продукта применяли обрызгивание туш после их туалета и до начала созревания раствором, содержащим по 2,0 мг% окситетрациклина и нистатина [45]. В этих опытах сравнивались между собой условия созревания при 30, 32, 37,8;

43,3 и 48,9° С. Установлено, что при температурах 30,0—37,8° С бывает трудно задержать развитие микрофлоры, а при 48,9° С наблюдается частичная коагуляция мышечных белков, сопровождающаяся разрушением пигментов, обеспечивающих нормальную красную окраску мяса. Кроме того, бифтексы, приготовленные из такого мяса, были сухими и имели старый неприятный запах [52].

Наилучшие результаты были получены для созревания в течение 1 суток при температуре 43,3° С и относительной влажности воздуха 85—90% [52, 53].

Но даже при этих условиях в ряде случаев появлялся запах, характерный для старого, несвежего или перезрелого продукта и слабый горький привкус [53].

После окончания созревания при повышенной температуре мясо подвергалось охлаждению в течение 24 ч до температуры 1,7—4,4° С в толще продукта [45, 54]. В процессе такого ускоренного созревания при повышенной температуре было отмечено более быстрое падение величины рН (по сравнению с контрольными образцами, созревавшими при 1,7° С). Однако через 26—28 ч в обоих случаях рН достигал 5,4—5,7 [53]. За 1 сутки созревания при 43,3° усушка составила 2,2% для задней ноги и 3,9% для реберной части туши. Эти величины оказались меньшими, чем при проведении процесса созревания в промышленных условиях в течение 2 недель при 1,7° С [53].

Исследованиями [45] установлено, что при инъекции 0,8 мг окситетрациклина на 1 фунт живого веса наблюдаются следующие остаточные количества антибиотика в различных тканях и органах животного: в почках — до 2,0 мг на 1 кг продукта, печени — 0,4—1,0 мг в сердце и мышцах — 0,1—0,3 мг и в крови — от 0,05 до 0,2 мг на 1 кг. В процессе созревания количество окситетрациклина уменьшается незначительно и температура созревания не влияет на скорость его расходования в мышечной ткани.

На рис. 60 показано остаточное количество окситетрациклина в говяжьем мясе до и после его тепловой обработки при различных условиях.

Как видно из рисунка, в случае тепловой обработки до температуры 60° С внутри бифтекса разрушается только 18,0% исходного количества антибиотика. Если же она проводилась до температуры внутри продукта 71,1° С, то имело место почти полное его разрушение. Остается невыясненным, в какой мере эти остаточные количества антибиотика могут оказывать влияние на организм человека. Авторы [45] отмечают значительное увеличение нежности при проведении процесса в указанных условиях.

По уровню нежности созревание мяса в течение 2 суток при 30—32,2° С или в течение суток при 43,3° С (с последующим

охлаждением в течение суток) также эффективно, как двухнедельное при 1,7° С [45, 53].

Высокотемпературный метод созревания в пределах одной туши более эффективен для менее нежных мускулов и отрубов [53]. Однако при этом следует обратить внимание на такое явление: созревание при указанных температурах в зависимости от продолжительности процесса имеет оптимум размягчающего действия, после которого нежность несколько уменьшается [52]. Учитывая, что для разных туш и различных мускулов данной

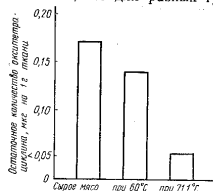


Рис. 60. Остаточное количество окситетрациклина в сыром и подвергнутом тепловой обработке мясе, прошедшем процесс созревания с применением антибиотиков (при 30° С в течение 2 суток) (Слит и Ньюмен).

кости. Авторы высказывают предположение о вовлечении в этот процесс сульфгидрильных групп белков мышечной ткани. Не исключена возможность, что указанные процессы могут значительно усиливаться благодаря действию окислительно-восстановительных ферментов мышечной ткани в оптимальных для них температурных условиях и что аналогичные процессы могут протекать на конечных этапах высокотемпературного созревания.

Из изложенного следует, что ускоренное созревание при температуре 30° С и выше в настоящее время еще не может быть рекомендовано для широкого практического использования.

УСКОРЕНИЕ РАССЛАБЛЕНИЯ ОКОЧЕНЕНИЯ ПУТЕМ ВВЕДЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ ДОБАВОК

Приведенный в предыдущей главе материал свидетельствует о связывании катионов белками мяса в процессе расслабления постлеубойного окоченения. Поэтому встал вопрос о возможности

ускорения процесса искусственным введением определенного количества минеральных солей.

Опытами было установлено, что введение в мясо незначительных количеств Са и Mg в значительной степени увеличивает нежность мяса и сокращает сроки его созревания [19].

Эти данные подтверждают и зарубежные авторы.

Вербийский и сотрудники [50] описывают опыты по вливанию животным растворов минеральных солей через кровеносную систему при убое и перед разделкой.

Когда животным вливали 20%-ный солевой раствор, содержащий NaNO_2 и NaNO_3 в количестве 10% от их веса, то получали готовые продукты, обладающие исключительной нежностью и значительно большей влагоудерживающей способностью при варке. При дефростации такого мяса практически не наблюдалось отделения сока.

Вербийский, Кохилл и Детерейдж [50] пришли к заключению, что добавление хлоридов Na, K, Ca и Mg к мясу перед его нагреванием до 70° С увеличивает влагоудерживающую способность белков. При этом Ca и Mg имеют больший эффект, чем Na и K. Наиболее эффективной оказалась комбинация Mg и Na.

Жесткое говяжье мясо, обработанное раствором, содержащим эти хлориды, становилось более нежным.

Мясо, обработанное перед замораживанием раствором NaCl, при оттаивании давало меньшую потерю сока. Введение в мясо от 3 до 10% (по весу) NaCl различной концентрации оказывает влияние, которое можно выразить в баллах жесткости: контроль — 3,9, 5%-ный раствор NaCl — 3,8, 7%-ный — 3,6, 10%-ный — 3,0, 22%-ный — 2,0.

Впервые Пальминим [11] были представлены доказательства того, что добавление 0,3—0,5% по весу пирофосфата увеличивает почти до первоначального уровня утраченную при постлеубойном окоченении растворимость белков фракции актомиозина; эти данные были подтверждены [3] для мясного фарша, к которому была добавлена поваренная соль. Таким образом, при этом происходит процесс, в какой-то мере сходный с тем, который наблюдается при расслаблении окоченения [17]. В соответствии с этим введение гексаметафосфата в парной окорок приводит к значительному увеличению нежности мяса до 7,3 балла против 5,4 в контрольных образцах (по 9-ти балловой системе) [29, 32].

Обработка гексаметафосфатом повышает pH и содержание гликогена, но дает более темный цвет. Введение смеси пирофосфата с поваренной солью оказывает аналогичное действие, снижая при этом количество вытекающего при хранении сока почти в 2 раза. Эти данные указывают на возможность ускорения процессов расслабления постлеубойного окоченения при помощи различных полифосфатов.

ОБРАБОТКА УЛЬТРАЗВУКОМ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ НЕЖНОСТИ МЯСА

Одним из последних достижений в области искусственного увеличения нежности является обработка мяса ультразвуковой вибрацией [9, 25, 27]. При этом мясо должно быть предварительно заморожено для придания ему твердой консистенции и в обрабатываемых порциях мышечные волокна должны быть расположены параллельно распространению звуковых волн.

Симьяном [41, 42, 43] были предложены следующие методы размачивания мороженого мяса с помощью ультразвука:

а) порции мяса помещались в наполненный рассолом чан на расстояние до 1 дюйма от его стенки, через которую передается вибрация. Рассол служил в качестве контактирующего агента. Для сохранения мяса в замороженном состоянии в рассол вводили сухой лед или в резервуаре устанавливали змеевик, в котором циркулирует хладагент;

б) устанавливали прямой контакт между плитой, через которую подается ультразвуковая энергия, и поверхность мяса;

в) осуществляли непрерывный процесс с использованием вращающегося барабана, через который проходят помещенные в конвейерную ленту порции обрабатываемого продукта стандартных размеров.

В зависимости от размеров порций и свойств обрабатываемого продукта продолжительность контакта с ультразвуком может быть различна.

Выполненные эксперименты [47] показали, что десятиминутная обработка существенно увеличивает нежность и уменьшает потери сока при оттаивании замороженных бифштексов. Вместе с тем она оказывает незначительное влияние на другие органолептические показатели, потери при варке и продолжительность тепловой обработки. Примененная в качестве упаковки крайовая пленка препятствует размачиванию мяса ультразвуком.

Для указанной обработки могут быть использованы генераторы энергии пьезоэлектрического или магнитострикционного действия мощностью 250—900 вт и работающие при частоте от 1 до 50 кГц.

Были предприняты попытки осуществить комбинированную обработку мяса протеолитическим ферментом и ультразвуком. Другой метод обработки мяса ультразвуком для ускорения созревания и улучшения его консистенции был предложен Хейджином [27]. Автор предлагает подвергать мясо в незаможенном состоянии воздействию ультразвуковых колебаний частотой 20—200 кГц.

Для создания сплошного тесного контакта между мясом и источником УЗ куски мяса с одной стороны покрывают материалом типа животного жира, заполняющим неровности поверхности

и имеющим волновое сопротивление (произведение плотности среды на скорость прохождения в ней звука), близкое к величине этого показателя для мяса. В таком виде мясо припрессовывают к металлической пластинке, присоединяемой к источнику УЗ. При этом методе продолжительность ультразвуковой обработки составляет от 0,3 до 30 мин, после чего нежность мяса достигает уровня, характерного для трехнедельного созревания в обычных условиях. Автор отмечает, что контакт между мясом и источником УЗ может быть также осуществлен через жидкость с волновым сопротивлением, близким к волновому сопротивлению мяса. В этом случае мясо помещают в пакет из влагопроницаемого материала и при помощи вакуума добиваются плотного прилегания упаковочного материала к поверхности мяса. Во время воздействия УЗ пакет с мясом перемещают в жидкости для воздействия на разные стороны поверхности продукта.

Чем вызывается увеличение нежности при воздействии ультразвука на мясо, остается невыясненным. Неизвестно, происходит ли только механическое разрушение волокон мышечной или соединительной тканей или же при этом создаются более благоприятные условия для действия ферментных систем мяса и для более интенсивного течения ряда биохимических и физико-химических процессов.

О вероятности последнего предположения свидетельствуют следующие данные. Ямагучи и сотрудники [30] установили влияние ультразвуковых волн на различные аминокислоты. Согласно этим данным, в результате озвучивания растворов метионина удалось обнаружить метионин-сульфоксид, количество которого возрастает с увеличением продолжительности ультразвуковой обработки. Авторы отмечают, что действие ультразвука на метионин сходно с действием на него перекиси водорода.

Эльпинер и сотрудники [20] показали, что в поле ультразвуковых волн белки (сырочоточный альбумин, лепсин и трипсин) в случае присутствия кислорода в озвучиваемом растворе распадаются с образованием более мелких молекулярных осколков. У указанных ферментов такой распад сопровождается потерей ферментативной активности. Замена воздуха водородом в озвучиваемом растворе, наоборот, приводит к увеличению молекулярного веса белка и сохранению активности ферментов.

УЛУЧШЕНИЕ КОНСИСТЕНЦИИ МЯСА ПРИ ПОМОЩИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

МЕХАНИЗМ ПРОТЕОЛИЗА

Получение достоверных данных о химической природе ферментов, их активных групп, а также изучение их свойств и химизма ферментативных реакций подтверждает положение о том, что ферменты образуют с соответствующим субстратом нестойкие промежуточные соединения.

По Браунштейну [3] в образовании и превращениях фермент-субстратных соединений имеются следующие стадии:

- а) присоединение молекул субстрата к ферменту;
- б) преобразование первичного промежуточного соединения в один или несколько последовательных (переходных) комплексов;
- в) отделение конечных продуктов реакции в течение одной или нескольких стадий.

При некоторых ферментативных реакциях встречаются промежуточные комплексы, в которые входит не вся молекула субстрата, а та или иная ее часть.

В образовании фермент-субстратных комплексов могут участвовать в различных сочетаниях, кроме ковалентных, координационных и ионных связей, также и менее прочные формы связей между молекулой фермента и отдельными группами молекулы субстрата (водородные связи, электростатическое притяжение полярных групп и др.).

Закономерности субстратной специфичности привели многих авторов к мысли о множественном средстве фермента к молекуле субстрата. В образовании этих промежуточных соединений участвует не одна функциональная группа фермента, а несколько таких групп, вступающих во взаимодействие с соответствующими группами молекулы субстрата. Но лишь одна или немногие пары взаимодействующих групп принимают участие в катализируемой данным ферментом реакции. Остальные связи служат для прикрепления в определенном порядке молекулы субстрата к ферменту. Вместе с тем эти дополнительные связи могут оказывать существенное влияние на эффективность каталитической

реакции, специфически повышая реакционную способность промежуточного комплекса [3].

Следовательно, активный центр фермента состоит из ряда ориентированных определенным образом функциональных групп. Среди них различают одну или несколько каталитически активных групп (реактивный участок активного центра фермента) и группы, образующие участок, обеспечивающий связывание субстрата с ферментом (контактирующий участок).

Как отмечает автор [3], это разделение в известной мере условно.

Соединения, имеющие пространственную или электронную конфигурацию, сходную с конфигурацией молекулы субстрата или ее частей, проявляют сходство к контактирующему участку фермента и, отсесняя от него субстрат, действуют в качестве конкурентных ингибиторов. Реагенты же, взаимодействующие с каталитически активными группами, вызывают неконкурентное и необратимое блокирование фермента [3]. Следует также иметь в виду, что функциональные группы, из которых состоит активный центр, не занимают смежного положения в пептидных цепях белковой молекулы фермента, а находятся в разных отрезках этих цепей, сближенных друг с другом во вторичной или третичной белковой структуре фермента. Для протеолитических ферментов в качестве функциональных групп активных центров имеют важное значение сульфгидрильная группа цистеина, гидроксильная группа серина и имидазольная группа гистидина. Для действия химотрипсина и трипсина доказано совместное участие двух последних групп. По мнению многих исследователей, такие протеиназы, как химотрипсин, трипсин и пепсин, имеют по одному активному центру на молекулу.

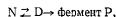
Как известно, пепсин, трипсин и химотрипсин в организме синтезируются в виде своих неактивных предшественников (пепсиноген, трипсиноген, химотрипсиноген), которые затем активируются.

В настоящее время существуют две точки зрения на этот процесс. Согласно первой активная группировка уже существует и не проявляется в проферментах, так как ее блокируют ингибиторы и процесс активации заключается в деблокировании готового активного центра.

Приверженцы второй точки зрения исходят из того, что активная группировка возникает в процессе превращения профермента в фермент, связанным с образованием низкомолекулярных продуктов. Имеются основания считать, что процесс превращения трипсиногена в трипсин протекает по второму пути (рис. 61).

На этой схеме видно, каким путем образуется активный центр, благодаря которому не обладающий ферментативной активностью трипсиноген превращается в активный протеолитический фермент — трипсин.

Ранее предполагалось, что все белки перевариваются протеолитическими ферментами только в денатурированной форме, и поэтому процесс протеолиза можно выразить уравнением



где N — нативный белок;

D — денатурированный белок;

P — продукты переваривания.

Действительно, глобулярные белки приобретают максимальную ферментативную гидролизуюемость в истинно денатурирован-

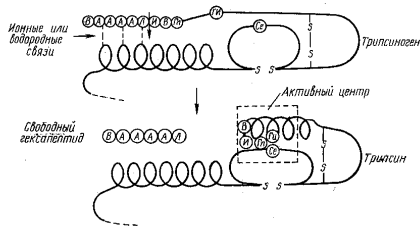


Рис. 61. Схема активирования трипсиногена (Энгельгардт):

A — аспаргин; Гл — глицин; Гу — гистидин; И — изолейцин; Л — лизин; Се — серин; В — валин; S-S — дисульфидные группы.

ном состоянии, т. е. когда разрушены их вторичная и третичная структуры [33]. В то же время эти же белки гидролизуются протеиназами и в нативном состоянии, но с меньшей скоростью. Таким образом, денатурированное состояние белка-субстрата не является непременным условием для его расщепления протеолитическими ферментами [33]. Процесс протеолиза характерен тем, что потеря белком одной или нескольких амидных групп, разрыв одно-двух пептидных связей, взаимодействие с несколькими простейшими ионами могут вызвать весьма существенные изменения физико-химических свойств этого белка [27]. При определенных (очень мягких) условиях эти изменения могут коснуться только какой-то небольшой части общего числа его молекул. В результате при электрофорезе может появиться новая белковая фракция. Поэтому очень незначительные изменения в строении молекулы субстрата могут превратить хороший субстрат в непригодный и даже в ингибитор фермента [3].

Изучению механизма протеолиза посвящено огромное число исследований, результаты которых суммированы в ряде обзорных и экспериментальных работ [3, 12, 16, 21, 27, 32, 33, 35].

Теоретически можно представить три возможных пути протеолиза:

а) «взрывной» распад каждой отдельной белковой молекулы с образованием сразу конечных продуктов реакции. Причем даже при длительном течении реакции удается обнаружить неизменный (неатакованный) белок, а продукты протеолиза не подвергаются дальнейшим изменениям;

б) постепенное отщепление от белковой молекулы концевых низкомолекулярных продуктов гидролиза с сохранением на первых стадиях процесса высокомолекулярного остатка, способного к дальнейшему перевариванию;

в) первоначальное расщепление белковой молекулы на крупные фрагменты, которые постепенно деградируют до конечных продуктов распада.

Первая из перечисленных гипотез была выдвинута Тизелиусом и Эрикссон-Квенсель [78] и впоследствии был получен ряд данных, подтверждающих наличие реакций, протекающих по этому принципу.

Однако при определенных условиях, например при низкой концентрации фермента, в процессе протеолиза могут получаться довольно большие количества промежуточных продуктов с высоким молекулярным весом. Так, было найдено [65], что при переваривании дифтерийного антитоксина пепсином при pH 3,5—4,0 в течение 24 ч при 37° С получаются преимущественно высокомолекулярные продукты, а при оптимальных для пепсина условиях реакции среды (pH 2,0) преобладают низкомолекулярные продукты.

Локшина [20] установила, что при действии трипсина и химотрипсина на стурин в процессе протеолиза происходит изменение состава небелковой фракции. Следовательно, образующиеся в начале реакции крупномолекулярные продукты распада белков подвергаются дальнейшему постепенному расщеплению протеолитическими ферментами и реакция протеолиза имеет ступенчатый характер.

В данном случае, как считает В. Н. Орехович [23, 24, 25], в начале реакции имеет место такое превращение белков, когда один белок под влиянием протеиназы превращается в другой с новыми свойствами и сохранением нативной формы. Образующиеся крупномолекулярные обломки затем расщепляются до низкомолекулярных пептидов. По такому пути идет расщепление миозина трипсином, γ -глобулина папаненом и бромелином [32]. Течение протеолиза нативных белков по типу превращения белков или по типу их дезинтеграции в большей степени определяется структурой белка, а не видом использованной протеиназы [33].

Наконец, возможен и третий механизм протеолиза, когда под действием фермента от концов белковой молекулы последовательно отщепляется по одному аминокислотному остатку. Такой путь наиболее характерен для действия пептидаз (карбоксипептидаза, лейциновая аминокпептидаза), в некоторых случаях он возможен и для расщепления белков, например при активировании проферментов протеиназ.

Доказано [27], что трипсин расщепляет в белках пептидные связи, образованные при участии карбоксильных групп аргинина и лизина. При этом пептидные связи лизина с аспарагиновой и глутаминовой кислотами, имеющими свободную α -карбоксильную группу, трипсином не расщепляются. Но когда α -карбок-

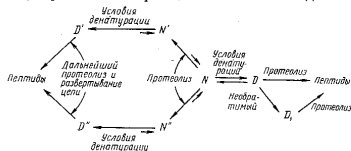


Рис. 62. Схема механизма процесса протеолиза (Грин и Нейрат).

сильная группа блокирована, эти связи легко расщепляются. Химотрипсин расщепляет преимущественно пептидные связи, образованные с участием карбоксильных групп тирозина, фенилаланина, метионина и отчасти триптофана. Эта специфичность зависит также от природы белкового субстрата. Например, в рибонуклеазе химотрипсин гидролизует связи, образованные при участии карбоксильных групп лейцина, аспарагина и гистидина. Коллагеназа расщепляет пептидные связи, образованные аминными группами глицина и карбоксильными группами оксипролина, а также аланина и пролина. Эластаза, кроме эластина, гидролизует и другие белки: гемоглобин, фибрин, альбумин, казеин, а также денатурированный нагреванием коллаген.

Суммируя все имеющиеся в литературе экспериментальные данные о механизме ферментативного расщепления белков, Грин и Нейрат [12] предложили следующую, наиболее вероятную и всеобъемлющую теорию протеолиза. Нативный белок имеет на своей поверхности относительно мало пептидных связей, причем лишь немногие из них способны гидролизываться данным ферментом. Относительные скорости протеолиза нативной и денатурированной форм белка зависят от ряда факторов, в частности от относительных концентраций нативной и денатурированной

форм, а также от относительного числа в каждой форме связей, способных гидролизываться. Гидролиз внутренних пептидных связей полипептидных цепей вызывает нарушение цепочной структуры белка без обязательного освобождения пептидных фрагментов. Эту стадию процесса можно рассматривать как ограниченный протеолиз. Течение процесса протеолиза по тому или другому пути зависит от специфичности и концентрации фермента, структуры субстрата, присутствия денатурирующих агентов, pH, температуры и других факторов.

Авторы [12] предложили схему протеолиза (рис. 62), которая дает возможность объяснить большинство имеющихся экспериментальных данных.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ПРИМЕНЕНИИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА МЯСА

Вопрос о дальнейшем изучении путей интенсификации процесса созревания мяса чрезвычайно актуален, так как все изложенные нами методы и приемы по ряду причин еще не дают возможности их применять в широких промышленных масштабах.

За рубежом в последние годы находит все более широкое применение обработка мяса протеолитическими ферментами, которая также приводит к значительно увеличению его нежности.

Выводные нами закономерности процесса увеличения нежности при созревании мяса тоже требуют разработки этого вопроса. При исследованиях нами было обращено больше всего внимания на возможность применения протеолитических ферментов при производстве натуральных полуфабрикатов.

Изыскание путей улучшения консистенции мяса диктуется и тем, что свыше 64% отрубов или 48% мякоти говяжьей туши составляет мясо задней ноги, лопатки и грудинки, полноценное по белковому составу, но отличающееся жесткостью, и поэтому в кулинарии в основном используется для тушения или приготовления котлетной массы.

Для натуральных полуфабрикатов, из которых готовятся пользующиеся наибольшим спросом жареные 2-е блюда, особенно успешно применяют только вырезку, спинную и поясничную части, составляющие всего лишь 14—17% к весу туши.

По сообщению Зильберштейна [74], в настоящее время промышленность США изготавливает порошкообразные и жидкие размягчители мяса, причем последние могут быть использованы как в сухом, так и в растворенном виде. Жидкие препараты выпускают в виде растворов, готовых к употреблению, или концентрированных, подлежащих разбавлению.

Порошкообразные и жидкие размягчители мяса представляют собой препараты, в состав которых входят папани, поваренная

соль, и глютаминат натрия. Кроме того, в их состав могут быть введены специи.

Жидкие препараты изготавливают, растворяя 450 г порошкообразного препарата в 3,8 л воды. Наилучшая температура для хранения растворов — 4—5°С при максимальном сроке их хранения до одной недели.

В промышленности для изготовления полуфабрикатов применяют раствор фермента, а в ресторанах и в домашних условиях используют порошкообразную форму препарата.

В последнем случае бифитексы посыпают четвертью или половиной чайной ложки порошка на 450 г мяса. После этого мясо подвергают кулинарной тепловой обработке в печи при умеренной температуре (149°С).

Препарат розим П-11 в своей основе имеет протеолитический фермент, получаемый из плесневых грибов *Aspergillus flavus* — огузае.

Типичный состав порошкообразного размягчителя мяса, имеющего в своей основе этот препарат, следующий (в %):

розим П-11	— 3—5
NaCl	— 50,0
глютаминат Na	— 1,8

Безводная декстроза добавляется до 100%.

В случае обработки мяса погружением готовят раствор, в котором на каждые 15 частей воды берется 1 часть порошкообразного размягчителя такого состава (в %):

розим П-11	— 50
NaCl	— 40
глютаминат Na	— 10

В состав жидких размягчителей включается 10% пропиленгликоля.

По данным ряда авторов [66, 74, 75, 84], основными протеолитическими ферментами, применяемыми в США и других странах для улучшения консистенции мяса, являются:

папаин — содержится в млечном соке тропического дынного дерева; фицин — содержится в млечном соке *Ficus carica* (инжира); бромелин и бромелайн — получают из ананасов; асклепайн — находится в растении «ваточник»; маин — получают из растения маклюра оранжевая; трипсин и виоказ — препараты животного происхождения, изготавливаются из поджелудочной железы убойных животных; розим — П-11, розим А-4, пртеаза А-15, ХТ — протеолитический фермент, гидролазы Д и ТП, грибная амилаза — препараты протеолитических ферментов, приготовляемые из плесневых грибов; биопазра — ферментный препарат, получаемый из культуры *Bac. Subtilis*.

Следовательно для размягчения мяса применяют протеолитические ферменты растительного, животного и микробного происхождения. Предпочтение отдается папаину, поскольку Таппель и Мияда [75], а также Байнер, Менджел и другие [86] установили, что температурный оптимум размягчающего действия этого фермента лежит между 60 и 80°С. Следовательно, не требуется предварительной инкубации обрабатываемого продукта с ферментом, так как улучшение консистенции мяса может быть достигнуто в процессе тепловой кулинарной обработки.

Фицин, бромелин, трипсин, папаин и розим, как считают Мияда и Таппель [62], пригодны для ускорения процесса созревания мяса. Активность их воздействия на мясо уменьшается в том порядке, в котором они перечислены. По имеющимся данным [93], фицин в 4—7 раз более активен, чем папаин.

Как показали опыты Одинцова [22], французский препарат «Тандрин», имеющий в своем составе протеолитический фермент папаин, резко повышает нежность натуральных полуфабрикатов, приготовленных из жесткого говяжьего мяса от боковой и наружной частей задней ноги, лопатки и шеи. Изделия получают мягкими и сочными и по органолептической оценке не уступают приготовленным обычным способом из вырезки, толстого или тонкого края.

При оценке протеолитической активности ферментных препаратов применяют различные методы, основанные на количественном учете первичных или конечных продуктов распада белковых веществ или на изменении их физико-химических свойств.

Томас и Парtridge [76] изучали вопрос о наличии эластолитической активности у препаратов протеолитических ферментов. Их данные представлены в табл. 42, где эластолитическая активность выражена в количестве мг фермента, способном растворить в течение 30 мин 10 мг эластина; протеолитическая актив-

Таблица 42

Наименование фермента	Специфическая эластолитическая активность	Специфическая протеолитическая активность	Отношение между ними
Фицин	0,186 0,128 0,243	87,0 87,6 83,2	0,00214 0,00249 0,00172
Папаин	0,50 0,50	77,0 84,0	0,00649 0,00696
Бромелин	0,21	44,0	0,00471
Панкреатин	0,007 0,004	1,25 0,85	0,00660 0,00471
Розим П-11	0	12,0	—

ность — количеством мг фермента, способным за 10 мин при 37,5°С уменьшить наполовину вязкость раствора, содержащего 100 мг желатина.

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ СТРОЕНИЯ ТКАНЕЙ МЯСА

Гистологические изменения, вызываемые действием на мясо различных протеолитических ферментов, по мнению многих авторов [77, 85, 87], заключаются в утончении и растворении сарколеммы, в дезинтеграции клеточных ядер мышечной и соединительной тканей и, наконец, в дезинтеграции поперечной исчерченности мышечных волокон.

Эти изменения сопровождаются набуханием мышечных волокон.

При изучении ферментативного воздействия на коллагеновую соединительную ткань Ванг с сотрудниками [83] отмечал типичную последовательность ее изменений под воздействием фицина, бромелина и папаина: освобождение основного вещества; уменьшение способности к окрашиванию соединительной ткани; полная потеря способности к окрашиванию; потеря фибриллярного характера структурных элементов соединительной ткани и их превращение в аморфный материал.

Было показано, что ферментные препараты, полученные из тропических растений и поджелудочной железы, обладают коллагеназной активностью и действуют, таким образом, на оба структурных элемента мяса: мышечную и соединительную ткань. Применявшиеся микробные ферменты не имели коллагеназной активности или она была незначительна. Отмечено, что ХТ-протеолитический фермент, гидролаза Д, гидролаза ТП и амилаза из плесневых грибов в основном действуют на мышечные волокна и ограничено на основное вещество соединительной ткани без повреждения структуры коллагеновых волокон.

Результаты погружения перемизальной соединительной ткани в четырехпроцентные растворы трех ферментов из тропических растений показали, что волокна, обработанные бромелином и фицином, почти достигают последней стадии коллагенолиза.

Суммарное действие фермента и последующей варки было значительно сильнее, чем каждого из них в отдельности.

Ферментативное действие на эластин начиналось с сегментации индивидуальных волокон. Размер сегментационного процесса увеличивался во времени, вплоть до полной дезинтеграции волокон. Наибольшей эластолитической активностью обладал фицин, затем папаин и, наконец, бромелин. Бактериальные и грибные ферменты не проявляли такой активности, тогда как панкреатические препараты — коммерческий трипсин и виаказа — в некоторой степени расщепляли эластин.

Подкрепив полученные результаты исследований данными де-густационной оценки бифштексов, приготовленных из ферментированной и контрольной полусухожильной мышцы, Ванг и другие [83] пришли к выводу: увеличение нежности мяса при обработке протеолитическими ферментами увязывается главным образом с дезинтеграцией сарколеммы и оболочек мышечных волокон и с уменьшением растяжимости последних.

Кроме того, большая концентрация фермента необходима для размягчения бифштексов из полусухожильной мышцы, чем из длиннейшей мышцы спины.

На рис. 63 приведены результаты наблюдений В. А. Адукевича [1] о структурных изменениях в мышечной и соединительной тканях, вызываемых действием на мясо препаратов различных протеолитических ферментов. Через 3 ч после обработки мяса трипсином «Дифко» происходит резко выраженное набухание, разрыхление и частый сегментный распад мышечных волокон на первичные саркомы с сохранением сарколеммы и слабо выраженной исчерченности волокон и с зернистым распадом ядер (см. рис. 63, а).

При этом не наблюдались значительные изменения в соединительной ткани мяса, обработанного трипсином. После обработки мяса субтилопептидазой (рис. 63, б) микроскопическая картина мышечных и соединительнотканых волокон мало отличается от описанной. Набухание волокон в этом случае выражено более интенсивно, чем после применения трипсина «Дифко», и наблюдается сплошное деление волокон на первичные саркомы.

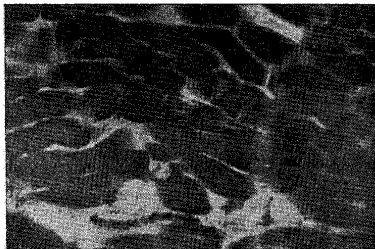
После обработки мяса фицином (рис. 63, в и г) также происходит резко выраженное набухание, разрыхление, частый сегментный распад мышечных волокон на первичные саркомы с частичным разрушением сарколеммы (рис. 63, в) и зернистый распад сегментов на вторичные — конечные саркомы — инокоммы и пылевидный распад ядер.

Кроме того, наблюдается исчезновение исчерченности и конфигурации, характеризующей сокращенное состояние мышечных волокон. Изменения в межмышечной соединительной ткани характеризуются ее разрыхлением, отделением и распадом (рис. 63, в и г). При обработке мяса фицином микроскопические изменения более резко выражены, чем в процессе созревания мяса после шести дней хранения туши при температуре 8—10°С. Сопоставление указанных наблюдений о микроскопических изменениях, возникающих в мясе в результате его обработки препаратами протеолитических ферментов, с рассмотренными нами ранее (рис. 14, а, б, 15, а, б, 16, а, б, в) данными об изменениях при созревании мяса свидетельствует о весьма близком сходстве микроскопической картины мяса в этих двух случаях.

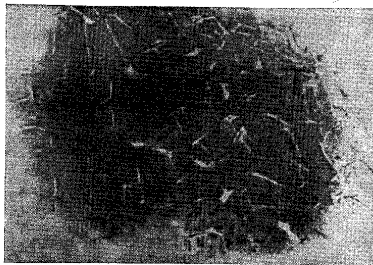
Различия заключаются в том, что при воздействии протеолитических ферментов:



a



б



б



б

Рис. 63. Микроскопическая картина тканей
а — мышечных волокон в результате обработки трипсином. Окраска
тоже в результате обработки субтилопептидазой; б — мышечных и
ка гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7;
серебром. Увеличение:

мяса двухдневного хранения (Адуцкевич):
гематоксилин-эозином. Увеличение: объектив — 20, окуляр — 7; б —
соединительнотканых волокон в результате обработки фичином. Окрас-
ка — мышечных волокон в результате обработки фичином. Импрегнация
объектив — 40, окуляр — 10.

а) поперечная и продольная исчерченность становится слабо различимой;

б) распад волокна на строго разграниченные сегменты не так отчетливо выражен, как при созревании в естественных условиях. Фермент, проникая внутрь волокна, интенсивно воздействует на всю его массу, а действие катепсина носит избирательный характер (по-видимому, в связи с определенной локализацией).

Кроме того, воздействие фицина выражается в частичном нарушении в отдельных местах целостности сарколеммы (рис. 63, г, верхнее волокно).

ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

При проверке ряда ферментных препаратов наиболее перспективными для улучшения консистенции мяса оказались: папани кавказский, фицин, трипсин, субтилопептидаза.

Путем органолептической оценки мы сравнили интенсивность воздействия на мясо фицина (препарат растительного происхождения), трипсина (препарат животного происхождения) и субтилопептидазы (препарат бактериального происхождения). Оказалось, что самые нежные бифштексы из полусухожильной мышцы были получены из мяса, обработанного фицином (средняя балловая оценка 3,9). Бифштексы из этой же мышцы, обработанной трипсином или субтилопептидазой, по нежности мало отличались между собой (средняя балловая оценка 3,6 и 3,4 — соответственно), но были несколько мягче контрольных образцов (средняя балловая оценка 3,0).

ХИМИЗМ ПРОЦЕССОВ

Как было отмечено Готтшаллом и сотрудниками [47], в США папани и другие протеолитические ферменты в качестве средств для созревания мяса применяют в значительной мере эмпирически. Имеется очень мало научных данных о способе действия таких размягчителей. Поэтому работы по изучению химизма процессов, приводящих к улучшению консистенции мяса при воздействии ферментных препаратов, приобретают большое значение.

ИЗМЕНЕНИЯ НЕЖНОСТИ И ГИДРАТАЦИИ МЯСА

Как и при изучении процесса созревания мяса в естественных условиях, изменения нежности мяса в процессе его ферментативной обработки нами характеризовались тремя объективными методами: пресс-методом Гамма, по сопротивлению резанию и замером расхода электроэнергии на измельчение образца электромясорубкой.

Изменения нежности сырого мяса в процессе его ферментирования, определяемой пресс-методом, отражены в табл. 43 по данным Кузнецовой [17а].

Таблица 43

Номер опыта	Изменения нежности мяса (см ²) на 1 г общего азота мяса			
	двухсуточного, не обработанного ферментом	двухсуточного, обработанного ферментом		
		субтилопептидазой	фицином	трипсином
1	284	295	—	—
2	343	373	—	—
4	303	360	—	—
Среднее из опытов 1—4	310	343	—	—
5	270	—	291	—
6	254	—	304	—
7	248	—	272	—
Среднее из опытов 5—7	257	—	289	—
8	303	—	—	492
9	306	—	—	420
10	305	—	—	478
11	256	—	—	405
Среднее из опытов 8—11	289	—	—	449

Результаты измерений нежности пресс-методом Гамма (табл. 43) при обработке мяса трипсином не совпадают с данными об органолептической характеристике интенсивности воздействия этого фермента. Они также противостоят исследованиям, которыми установлено, что по силе действия на мясо растительные протеазы превосходят трипсин [62 и др.].

По-видимому, показатель Грау и Гамма, определяющий упруго-пластические свойства сырого мяса, в большей степени зависит не только от нежности, но и других его качественных характеристик: липкости, вязкости и пр.

Величина усилий резания мяса вдоль волокон, измеренная на приборе Вернера — Братцлера, также изменяется при ферментировании. Это можно проследить как в образцах сырого мяса, так и предварительно ферментированного вареного. Как видно из рис. 64, на величину усилия резания большее влияние оказывает обработка мяса фицином. Уменьшение усилия, затрачиваемого на разрезание сырого или вареного мяса, составляет соответственно 17 и 19%, тогда как обработка трипсином уменьшает его только на 6 и 11% (в среднем).

Сопоставление величин снижения сопротивления резанию для образцов сырого и вареного мяса также свидетельствует о том, что улучшение консистенции в большей мере достигается в процессе выдерживания мяса при низкой положительной температуре в контакте с ферментными препаратами (фицином или трипсином), чем в процессе тепловой обработки, как утверждали некоторые исследователи [91 и др.].

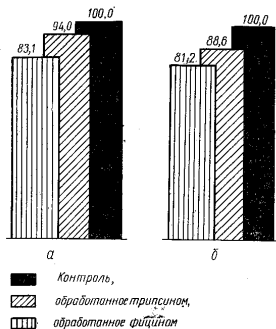


Рис. 64. Сравнительная величина сопротивления резанию вдоль мышечных волокон сырого и вареного 2-суточного мяса, обработанного перед варкой ферментами (Кузнецова): а — сырое; б — вареное.

О влиянии обработки ферментом на степень гидратации мышечной ткани можно судить по данным табл. 44.

В ней показано изменение содержания связанной воды в мясе в процессе его ферментирования трипсином.

Сравнивая эти данные с теми, которые приведены на рис. 40, необходимо отметить, что при обработке мяса препаратом протеолитического фермента трипсина процесс связывания в том же направлении, как и во второй фазе созревания в естественных условиях. Но при ферментировании наблюдается интенсификация процесса увеличения гидратации мяса.

Таблица 44

Номер опыта	Связанная вода к общему содержанию влаги (в %) для мяса двухсуточного хранения	
	не обработанного ферментом	обработанного ферментом
2	58,3	63,5
3	67,9	73,5
4	61,9	67,7
Среднее	62,7	68,2

ИЗМЕНЕНИЯ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ

Предпринимались попытки разрешить вопрос о том, на какие компоненты мяса (мышечную или соединительную ткань) действуют применяемые на практике ферментативные размягчители мяса.

Партман [64] пришел к выводу, что при искусственном созревании мяса расщепляются не только белки мышечных волокон, но и белки соединительной ткани.

По данным Мияды и Таппеля [62, 75], бромелин, фицин и папаин расщепляют коллаген, а некоторые из них (фицин) — также и эластин.

В табл. 45, взятой из работы Тсена и Таппеля [79], дается сравнительная характеристика интенсивности гидролиза актомиозина некоторыми протеолитическими ферментами при 40° С в течение 1 ч.

Таблица 45

Препараты	Характеристика препаратов	Количество освобожденного актомиозина, $\text{моль} \times 10^{-3}$
Папаин	Чистый в кристаллической форме	4,1
Бромелин	То же	2,5
Химотрипсин	» »	2,0
Трипсин	» »	1,6
Розим П-11	Не полностью очищенный (коммерческий)	2,9
Фицин	То же	2,3
Розим А-4	» »	2,0
Протеаза А-15	» »	0,8

Авторы [79] отмечают, что папаин, активно действуя на миофибриллярную часть актомиозина, вместе с этим практически не переваривает актин.

Более подробно баланс азотистых веществ в процессе искусственного созревания мяса под воздействием папаина изучали Шормюллер и Адлер [70]. Они исследовали мышечную ткань,

Номер опыта	Протеолитические ферменты	Прирост небелкового азота к общему азоту мяса, %
5 6 7 Среднее	Субтилопептидаза	5,72 6,65 7,20 6,53
2 3 4 Среднее	Трипсин	5,66 6,20 4,28 5,38
8 9 10 Среднее	Фицин	3,72 5,42 0,85 3,33
2 3 4 5 6 7 8 9 10 Среднее	Протеазы мяса (6 суток созревания при 8—10° С по сравнению с 2 сутками)	0,89 0,39 1,42 1,58 0,31 0 1,31 2,11 3,42 1,27

ферментов желудочно-кишечного тракта. Для решения этого вопроса нами были поставлены опыты по изучению перевариваемости *in vitro* полусухожильных мышц крупного рогатого скота при последовательном воздействии на них пепсином и панкреатином.

В опытные образцы мяса шприцеванием вводился раствор фицина, в контрольные образцы, взятые от той же туши, — прокипяченный раствор фицина.

По истечении срока ферментирования те и другие образцы варили в одинаковых условиях, измельчали и затем в них определяли количество освобожденного аминокислотного азота при последовательном воздействии пепсина и панкреатина. Результаты опытов представлены в табл. 47.

Данные табл. 47 показывают, что мясо, подвергнутое предварительной обработке раствором фицина, легче поддается после-

предварительно, перед обработкой ферментом, дважды пропущенную через мясорубку. Поэтому полученные ими результаты характеризуют лишь направление процессов и не могут служить показателями глубины изменений, происходящих в неповрежденной мышечной ткани при воздействии протеолитических ферментов.

Авторы отмечают, что уже в самом начале опыта в экстракте появляются свободные аминокислоты, состав которых в дальнейшем не изменяется, а лишь увеличивается их содержание.

Больше всего содержится в экстракте гликоколлы и аланина, меньше всего — аспарагиновой кислоты; появления свободного пролина не наблюдалось.

При изучении изменений аминокислот, связанных в виде пептидов, авторы пришли к выводу, что при искусственном созревании белок преимущественно расщепляется на высокомолекулярные частицы.

Нами сравнивались между собой по интенсивности процесса образования небелкового азота (табл. 46) три препарата различных протеолитических ферментов, вводимых в мясо в одинаковых по активности количествах (3,8 ед/мл). Для сопоставления приведены результаты определений небелкового азота в мясе в процессе его естественного созревания при 8—10° С между вторыми и шестыми сутками хранения.

Результаты свидетельствуют о том, что по интенсивности накопления в мясе неосаждаемых трихлоруксусной кислотой продуктов распада белков на первом месте стоит субтилопептидаза, на втором — трипсин и только на третьем месте фицин. Во всех трех случаях оцениваемая по данному показателю интенсивность процесса протеолиза значительно выше, чем при созревании мяса в естественных условиях.

При сравнении этих данных с приведенными на рис. 64 результатами определения интенсивности размягчения мышечной ткани в аналогичных условиях и этими же ферментными препаратами необходимо констатировать, что интенсивность протеолитического воздействия данных ферментов на белки мяса, оцениваемая по накоплению небелкового азота, не совпадает с интенсивностью процесса размягчения мышечной ткани. Во втором случае указанные препараты располагаются по степени убывающей активности в противоположном порядке: фицин, трипсин, субтилопептидаза.

Из этого нами был сделан вывод: улучшение нежности мяса при его обработке протеолитическими ферментами нельзя охарактеризовать одним таким показателем, как накопление небелкового азота.

Весьма интересно проследить, как поддается мясо ферментированное и неферментированное воздействию протеолитических

Таблица 47

Номер опыта	Термическое состояние мяса	Освободившийся при переваривании мяса азотный азот, мг %		Увеличение перевариваемости в % к контрольным образцам
		неферментированного (контрольного)	ферментированного	
1	Охлажденное	2120	2310	+8,9
2	Дефростированное	2408	2548	+5,8
3	Дефростированное	2128	2268	+6,5
Среднее	—	2219	2375	+7,0

дующему воздействию на него ферментов желудочно-кишечного тракта. Белки предварительно ферментированного мяса оказываются в какой-то мере уже подготовленными и легче расщепляются пепсином и панкреатином с освобождением азота. Таким образом, перевариваемость *in vitro* ферментированного мяса в среднем на 7,0% выше, чем неферментированного. Это указывает на важность процесса ферментирования для улучшения не только органолептических, но и физиологических свойств мяса.

Приведенные результаты согласуются с данными Фарелла [46] о том, что обработка мяса протеолитическими ферментами увеличивает его перевариваемость более чем на 16%.

Цендер и сотрудники [97] обрабатывали мясо препаратами папаина и трипсина. Они показали, что действие указанных ферментов на мясо начинается с освобождения растворимых в глицерине белков, и на первой стадии действие папаина не сопровождается увеличением количества свободных аминокислот. Однако при действии трипсина одновременно с увеличением количества растворимых белков наблюдается некоторое увеличение количества свободных аминокислот.

Ниже приведены изменения в белковой системе бараньего мяса при воздействии на него протеолитических ферментов (по данным Цендера и сотрудников [97]):

Баранина	Оптическая плотность белков при 279 мкм	Оптическая плотность аминокислот при 279 мкм
Без папаина	10,75	6,25
С папанином	23,60	6,25
Без трипсина	11,00	6,40
С трипсином	19,70	7,26

Электрофоретическим разделением белков мяса, переходящих в глицериновый экстракт, установлено [97], что при воздействии трипсина образуются новые белковоподобные составные части мышечной ткани (рис. 65).

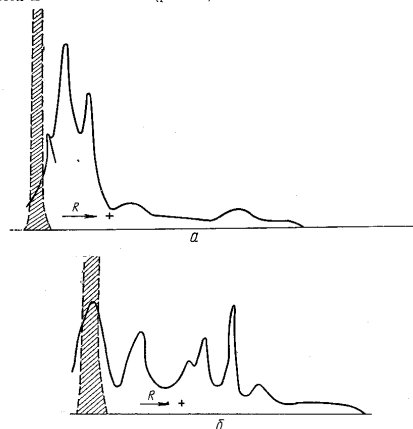


Рис. 65. Изменение электрофоретических свойств растворимых в глицериновом буфере белков мяса при воздействии на него трипсина (Цендер и сотрудники): а — без инкубации; б — инкубация 2 ч при 25° С; с 0,025 г трипсина на 100 г мяса.

Они характеризуются более высокой электрофоретической подвижностью. Как предполагают авторы, эти составные части являются продуктами первичной деструкции миофибриллярных белков.

На основании полученных данных авторы выдвигают предположение, что действие ферментативных размягчителей мяса заключается в ограничении переваривания фибриллярных или, возможно, соединительнотканых белков мяса. Поэтому мы ре-

шили более глубоко изучить этот вопрос и сравнить по содержанию N-концевых групп белки фракции миозина, выделенные из мяса двухсуточного хранения до и после его обработки препаратами протеолитических ферментов (трипсином и фичином). В опытах с трипсином объектом исследования служила полусухожильная мышца, а с фичином — длинная мышца спины. В первом случае активность испытуемого препарата составляла 3,8 ед/мл (по методу водно-спиртового титрования). В опытах с фичином была принята оптимальная концентрация фермента для проведения процесса ферментирования мяса в производственных условиях (2,0—2,5 ед/мл).

В табл. 48 приведены данные о накоплении N-концевых аминокислот в белках фракции миозина, выделенных из мяса до и после его обработки трипсином. Для сравнения в ней указано содержание N-концевых аминокислот в белках фракции миозина парного необработанного трипсином мяса [31б].

Таблица 48

N-концевые аминокислоты	Количество N-концевых аминокислот в белках фракции миозина мяса, ммоль/моль миозина		
	парного	двухсуточного хранения	
		необработанного трипсином	обработанного трипсином
Дикарбоновые кислоты*	3	80	270
Глицин	3	71	302
Аланин	1	47	188
Лейцин	0	87	283
Сумма пяти аминокислот	7	285	1043

* Аспарагиновая и глютаминовая.

Таблица 49 включает в себя данные о накоплении N-концевых групп в белках фракции миозина в результате обработки мяса фичином [31в].

Вследствие различий в методике постановки опытов мы, к сожалению, не можем дать количественного сравнения действия фичина и трипсина на белки фракции миозина. Однако необходимо отметить, что при обработке мяса препаратами этих протеолитических ферментов, так же как и в процессе его естественного созревания, в белках фракции миозина всегда накапливаются концевые группы одних и тех же аминокислот. Это указывает на однотипность процессов.

Кроме концевых групп лейцина и дикарбоновых кислот, при действии трипсина также образуются значительные количества остатков глицина, а при действии фичина — N-концевых групп серина.

N-концевые аминокислоты	Количество N-концевых аминокислот в белках фракции миозина двухсуточного мяса, ммоль/моль	
	необработанного фичином	обработанного фичином
Дикарбоновые кислоты	55	128
Глицин	13	30
Серин	58	124
Аланин	45	90
Лейцин	190	291
Валин	23	37
Сумма семи аминокислот	384	590

Необходимо также обратить внимание на такой факт: при воздействии на мясо фичина в концентрациях, которые мы рекомендуем для применения в производственных условиях, суммарное количество шести N-концевых аминокислот в белках фракции миозина превышает величину этого показателя для созревшего мяса шестисуточного хранения при 8—10° С (соответственно 553 и 433 ммоль на 1 моль миозина).

ИЗМЕНЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ ВНУТРИМЫШЕЧНОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Исследуя ферментативное переваривание выделенной стромы мяса, Миллер и Кастелик [60] нашли, что в ней находится азотсодержащая фракция, которая переваривается папаином и все же не является фибриллярным соединительнотканым белком, так как количество оксипролина при этом не меняется. Эта же фракция подвергается воздействию гиалуронидазы с освобождением редуцирующих веществ. Отсюда возникло предположение о том, что она может представлять собой составную часть межзубчатого вещества соединительной ткани.

Выделяя строму полуперепончатой мышцы крупного рогатого скота, Лобанов и Елманов [14, 19] исследовали на ее образцах действие некоторых протеолитических ферментов. Некоторые результаты этого исследования приводятся в табл. 50. В ней указано количество белков стромы, расщепленных под действием ферментов и последующей варки.

Данные свидетельствуют о том, что ряд испытанных препаратов оказывает несомненное действие на компоненты внутримышечной соединительной ткани, в результате чего понижается гидротермическая устойчивость коллагена.

Снижение гидротермической устойчивости коллагена авторы объясняют, с одной стороны, расщеплением протеолитическими

Таблица 50

Раствор для обработки стромы	рН	Количество белков стромы в % к исходному содержанию					
		коллаген		эластин		основное вещество	
		термостатирование	варка	термостатирование	варка	термостатирование	варка
Вода дистиллированная	6,6	При 60° С	9,5	При 60° С	—	При 60° С	4,8
Папаин, раствор в дистиллированной воде	6,6	26,0	28,3	30,6	0,7	53,5	2,5
Тандрин, раствор в дистиллированной воде	4,7	44,9	35,5	18,8	11,6	58,2	3,5
Экстракт из грибов <i>Rapuz rudis</i>	5,6	26,6	29,9	6,2	4,9	56,5	4,5
Экстракт из ростков сои харьковской	4,0	0,0	9,0	0,0	0,0	7,0	3,1
Экстракт из ростков сои староукраинской	4,3	11,8	58,9	6,2	0,0	34,2	5,5
Экстракт из ростков фасоли	4,8	0,0	9,5	0,0	0,0	0,0	3,9
Экстракт из ростков бобов	5,0	0,0	11,1	0,0	7,8	6,1	11,9
		При 37° С		При 37° С		При 37° С	
Папаин, раствор в дистиллированной воде	6,6	4,5	36,2	22,6	0,0	53,4	0,0
Экстракт из грибов <i>Rapuz rudis</i>	5,6	11,0	22,0	0,0	0,0	37,1	0,0

Примечание. Экстракты из грибов *Rapuz rudis*, а также из проростков сои авторы получали настаиванием в 5%-ном растворе NaCl.

ферментами значительной части (до 58%) основного вещества, с другой — большим или меньшим ослаблением структуры коллагена, остающегося нерасщепленным. При этом различия в гидротермической устойчивости коллагена, наблюдаемые в образцах стромы с одинаковой степенью расщепления основного вещества, они объясняют действием второго фактора.

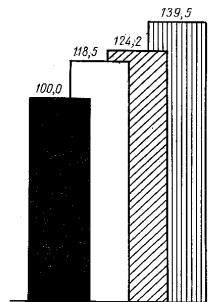
Авторы не приводят подробной методики получения стромы, а неспецифический тест для определения основного вещества дает основание усомниться в том, не содержит ли эта строма значительного количества белков актомозинового комплекса. Это обстоятельство затрудняет интерпретацию полученных ими результатов в части, касающейся воздействия ферментов на основное вещество.

Недавно опубликовано исследование Эль-Гарбави и Уайтгейкера [45] о влиянии ряда факторов на степень переваривания ферментами белков растворимых в щелочи, эластина и коллагена

на двуглавой мышцы бедра крупного рогатого скота, высушенным методом сублимации.

Изучалось влияние таких факторов: рН, концентрация ферментов и наличие активаторов, а также температуры. Было найдено, что оптимальный рН для воздействия ферментов близок к нейтральному; оптимальная температура переваривания белков фицином и бромелином лежит около 80° С. Отмечена высокая активность фицина при воздействии на эластин и активирующее действие цистеина и поваренной соли при переваривании коллагена и эластина. Авторы считают, что для проявления активности фицина и бромелина в отношении коллагена необходимым условием является его денатурация.

Мак Интош и Карлин [61] опубликовали результаты предварительных исследований действия папаина на белки полусухожильной говьяжьей мышцы, применив для оценки результатов действия фермента метод ультрафильтрации. Они сделали заключение о том, что все фракции белков скелетной мышцы, взятые для исследования, подвергаются в той или иной степени воздействию папаина. Папаин действует на мукопротеин и коллаген сильнее, чем на другие белки скелетной мышцы. Данные о снижении вязкости мукопротеиновой фракции, а также об образовании гелеобразной структуры в суспензии коллагена под влиянием папаина приводят авторов к мысли о зависимости, по крайней мере частичной, размягчающегося действия папаина от расщепления соединительной ткани. Однако



- — Контроль,
- — обработанное субтилопептидазой,
- ▨ — обработанное трипсином,
- ▤ — обработанное фицином

Рис. 66. Увеличение развариваемости коллагена внутримышечной соединительной ткани 2-суточного мяса в результате обработки препаратами протеолитических ферментов (в % к контрольному образцу) (Кузнецова и Соловьев).

авторы не исключают того, что методом ультрафильтрации не могут быть обнаружены тонкие структурные изменения в белках, в том числе во внутриклеточных плазматических и структурных белках мышц, которые могут оказывать решающее влияние на нежность мяса.

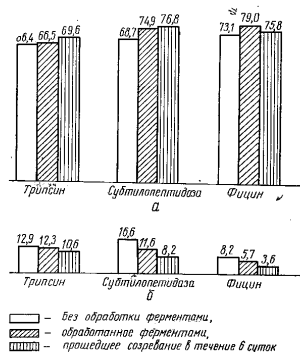


Рис. 67. Диаграмма изменений растворения при автоклавировании с водой структурных белков внутримышечной соединительной ткани при обработке 2-суточного мяса ферментами и при его естественном созревании (в % к содержанию оксипролина в мясе) (Кузнецова):

а — фракция, растворимая при автоклавировании; б — нерастворимая.

Было установлено [17а, 31а, 98, 99], что при варке обработанного ферментами мяса коллаген в большей степени переходит в глютин, чем коллаген контрольных образцов (рис. 66).

Приведенные данные свидетельствуют об увеличении развариваемости коллагена при применении для обработки мяса всех испытанных препаратов протеолитических ферментов. Однако наиболее резко выраженные изменения развариваемости коллагена наблюдаются в результате обработки мяса фицином. Достоверность разницы между значениями развариваемости коллагена для обработанного и необработанного фицином мяса очень высо-

ка. Для других ферментов полученные значения развариваемости коллагена различаются для обработанного и контрольного образцов мяса с меньшей достоверностью. Нами [17а, 31а] получены приведенные в табл. 51 и на рис. 67 данные сравнительного анализа изменений лабильности фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани мяса двухсуточного хранения, подвергнувшегося и не подвергнувшегося ферментированию.

Таблица 51

Мясо	Содержание оксипролина (ОП) в фракциях фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани мяса, % к содержанию ОП в мясе		
	щелочерастворимая фракция	фракция, растворимая при автоклавировании	фракция, нерастворимая при автоклавировании
Необработанное ферментом	15,5	68,7	16,6
Обработанное субтилопептидазой	13,0	74,9	11,6
Необработанное ферментом	18,7	73,1	8,2
Обработанное фицином	17,3	79,0	5,7
Необработанное ферментом	20,5	66,4	12,9
Обработанное трипсином	20,5	66,5	12,3

Орехович, Павлихина и Шликтер [26], исследуя щелочерастворимую фракцию коллагена, установили, что она идентична проколлагену, который в большей степени подвержен действию ферментов, чем коллаген. Однако наши данные об отсутствии оксипролина в солерастворимой фракции белков внутримышечной соединительной ткани свидетельствуют о том, что применявшиеся ферменты не расщепляли коллагена до осколков, которые могли быть растворены при солевой экстракции, или же они не содержали оксипролина.

При естественном ходе созревания мяса извлечение фибриллярных белков в щелочной экстракт имеет тенденцию к увеличению по мере углубления созревания (табл. 34). В то же время определение оксипролина в этой фракции из мяса, обработанного тремя различными протеолитическими ферментами (табл. 51), по средним данным, практически не дало никакой разницы по сравнению с необработанным мясом того же срока хранения. Больше того, в ряде случаев даже наблюдалось небольшое его уменьшение [17а, 31а].

Опыты с применением субтилопептидазы и фицина показали, что под влиянием этих ферментов растворение фибриллярных белков соединительной ткани при автоклавировании несколько увеличивается, т. е. они становятся более лабильными. В результате воздействия трипсина увеличения лабильности этой фракции практически не наблюдалось.

Таблица 52

Препараты протеолитических ферментов	Содержание основного вещества внутримышечной соединительной ткани, Гексамин (ГА) основного вещества в % к содержанию ГА в мясе	
	необработанным ферментом	обработанным ферментом
Субтилопептидаза	70,3	64,9
Фицин	67,5	47,0
Трипсин	57,8	53,6

Таблица 53

Мясо	Содержание (ГА) в фракциях основного вещества внутримышечной соединительной ткани мяса, % к содержанию ГА в основном веществе	
	щелочерастворимой	растворимой при автоклавировании
Необработанный ферментом	66,3	31,6
Обработанное субтилопептидазой	72,8	25,3
Необработанный ферментом	60,6	36,8
Обработанное фицином	70,7	27,0
Необработанный ферментом	58,1	41,0
Обработанное трипсином	55,3	44,1

Остаток, не растворенный в принятых условиях автоклавирования, уменьшается, когда применяют два первых фермента (табл. 51). Это подтверждает действенность препаратов по отношению к структурным белкам внутримышечной соединительной ткани. Как и в предыдущем случае при применении трипсина, содержание ОП в этом остатке для необработанного и обработанного ферментом мяса было почти одинаковым.

На диаграммах рис. 67 мы попытались сопоставить изменения, происходящие в структурных белках внутримышечной соединительной ткани, в ходе естественного созревания мяса при хранении в течение 6 суток при 8—10°С и в результате обработки препаратами протеолитических ферментов.

Характеристика хранившегося в течение 2 суток мяса приводится для сравнения величины изменений при созревании и ферментации с исходными данными.

Как видно из этих диаграмм, при обработке мяса трипсином фибриллярные компоненты значительно не изменяются и состояние мяса по лабильности фракций растворимой и нерастворимой при автоклавировании остатка после щелочной экстракции не достигает уровня, отмеченного для созревшего мяса.

После обработки субтилопептидазой состояние мяса, характеризующее содержанием оксипролина в этих фракциях, приближается к состоянию созревшего мяса, хотя и не достигает его.

Растворимость при автоклавировании коллагена из ферментированного фицином мяса больше, чем из созревшего мяса, т. е. интенсивность изменений в процессе ферментирования с фицином превышает ту, которая имеет место в ходе естественного созревания в течение 6 суток хранения мяса при 8—10°С. Тем не менее величина остатка после автоклавирования в созревшем мясе меньше, чем в ферментированном фицином, как и в случае применения других препаратов протеолитических ферментов. Таким образом, наибольшее действие на фибриллярные компоненты внутримышечной соединительной ткани обнаружено у фицина, наименьшее — у трипсина.

Выводы о преимуществах фицина по сравнению с трипсином и субтилопептидазой находятся в соответствии с литературными данными о способности препаратов протеолитических ферментов из тропических растений воздействовать на коллаген и эластин [45, 62, 75, 76, 95].

В табл. 52, 53 приведены результаты выполненных экспериментов об изменениях количества и лабильности основного вещества внутримышечной соединительной ткани при воздействии на мясо препаратов различных протеолитических ферментов.

При обработке мяса ферментами почти во всех исследованных случаях наблюдались изменения основного вещества, выражающиеся в уменьшении его количества во внутримышечной соединительной ткани. Особенно значительно это уменьшение в результате действия фицина. Однако и другие ферменты действительны по отношению к этому компоненту внутримышечной соединительной ткани.

По данным таблицы 53 можно проследить, как влияют на состояние основного вещества внутримышечной соединительной ткани различные ферменты. Так, после обработки трипсином количество легкорастворимой (растворимой в щелочи) фракции основного вещества практически не изменилось, хотя общее его содержание уменьшилось. При действии субтилопептидазы количество этой фракции основного вещества возросло с одновременным уменьшением общего количества. Особенно заметно увеличилось растворение основного вещества в щелочи под влиянием фицина, который оказал наибольшее действие и на снижение общего количества основного вещества во внутримышечной соединительной ткани мяса.

Зеркальное отображение указанных изменений можно проследить по данным, полученным в результате анализа труднорастворимой (растворимой при автоклавировании) фракции основного вещества.

Необходимо при этом отметить, что изменения нежности, измеренные по сопротивлению резания вдоль волокон сырого и вареного мяса, при обработке фицином коррелируются с из-

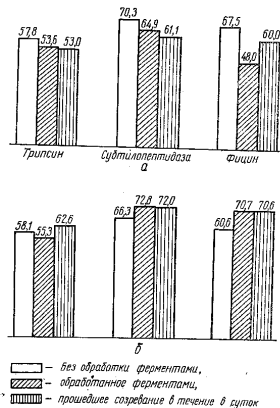


Рис. 68. Диаграмма изменений основного вещества и его легкорастворимой (щелочерастворимой) фракции при обработке двухсуточного мяса ферментами и при естественном созревании (в % к содержанию гекозаминов в основном веществе) (Кузнецова и Соловьев): а — основное вещество внутримышечной соединительной ткани; б — щелочерастворимая фракция основного вещества.

менениями развариваемости коллагена. Последняя в свою очередь связана с изменениями лабильности основного вещества.

На диаграммах рис. 68 мы попытались сопоставить изменения основного вещества внутримышечной соединительной ткани под воздействием протеолитических ферментов с теми, которые происходят в результате естественного созревания мяса в течение 6 суток его хранения при 8—10°С.

Как видно из этих диаграмм, при обработке трипсином достигается такое же содержание основного вещества в мясе, как и при естественном созревании в течение 6 суток. Однако созревшее при низких положительных температурах мясо содержит более лабильные гекозаминсодержащие компоненты.

Под воздействием субтилопептидазы, напротив, не достигается уровня созревшего мяса по содержанию основного вещества, но оно становится таким же лабильным, как в созревшем в течение 6 суток.

Обработка фицином приводит к значительному, даже против созревшего мяса, уменьшению содержания основного вещества внутримышечной соединительной ткани и к одновременному уменьшению его лабильности. Она практически достигает того же уровня, который отмечается в созревшем в течение 6 суток мясе.

Итак, опытами установлено, что при обработке мяса протеолитическими ферментами наблюдается уменьшение содержания в мясе основного вещества, а также увеличение его лабильности.

Из числа испытанных ферментных препаратов наиболее сильное действие на основное вещество оказывает фицин. При воздействии на мясо фицина, т. е. протеолитического фермента, вызывающего значительное увеличение нежности мяса, биохимические изменения основного вещества внутримышечной соединительной ткани происходят по той же схеме, как и во второй стадии созревания мяса.

Изменения компонентов внутримышечной соединительной ткани мяса наименее выражены при употреблении в качестве размягчителя трипсина «Дифко». Отчетливая разница выявлена только в содержании общего количества основного вещества в обработанном и контрольном образцах мяса.

Субтилопептидаза по результатам действия на внутримышечную соединительную ткань мяса занимает некоторое промежуточное положение: мясо, обработанное этим препаратом, приближается по лабильности компонентов внутримышечной соединительной ткани к состоянию созревшего, но отличается от него более высоким содержанием основного вещества. То же наблюдается и в отношении фибриллярных компонентов и развариваемости коллагена.

Проведенные биохимические исследования, подкрепленные микроскопическими и органолептическими наблюдениями, позволяют исследованные препараты протеолитических ферментов по силе их воздействия на мясо разместить в такой последовательности:

фицин > субтилопептидаза > трипсин «Дифко»

Представленные данные дают возможность установить, что процесс обработки мяса ферментами вызывает в нем изменения, в основном однотипные с теми, которые имеют место при дли-

тельном созревании: увеличивается количество небелкового азота, наблюдается накопление в белках фракции миозина N-концевых групп одних и тех же аминокислот, возрастает развариваемость коллагена при варке мяса и автоклавировании щелоченерастворимых белков внутримышечной соединительной ткани, уменьшается содержание и увеличивается лабильность основного вещества этой же ткани.

Следствием указанных биохимических изменений в обоих случаях является увеличение гидратации и нежности мяса, а также весьма сходные изменения в микроскопической картине строения тканей мяса.

Итак, изучение механизма воздействия на мясо препаратов протеолитических ферментов дает дополнительное доказательство того, что процесс увеличения нежности при созревании мяса в естественных условиях представляет собой начальную стадию протеолиза.

Кроме того, установлено, что тот или другой препарат протеолитического фермента может быть с успехом использован для улучшения консистенции мяса только в том случае, если он активно воздействует не только на миофибриллярные белки, но также и на компоненты внутримышечной соединительной ткани (ее основное вещество и фибриллярные белки).

При этом результат воздействия фидина превышает влияние длительного созревания мяса на процессы накопления N-концевых групп в белках фракции миозина, увеличения гидратации мяса, увеличения лабильности фибриллярных компонентов и основного вещества внутримышечной соединительной ткани, уменьшения количества основного вещества и увеличения развариваемости коллагена.

Примененный при исследовании метод фракционирования компонентов внутримышечной соединительной ткани позволил обнаружить участие этих компонентов как в наступлении постмертных изменений при окоченении мяса, так и в деструктивных процессах, приводящих к размягчению консистенции мяса в процессе его созревания. Фракционирование дает возможность вскрыть характер изменений, протекающих во внутримышечной соединительной ткани в процессе естественного созревания при низких положительных температурах и при обработке мяса протеолитическими ферментами. Весьма близкое сходство наблюдаемых изменений, а также значительное ускорение деструктивных процессов за счет применения протеолитических ферментов позволяют сделать выводы о больших перспективах использования ферментов в целях интенсификации процесса улучшения консистенции мяса при его созревании.

Результаты, полученные за рубежом, относятся к действию ферментных препаратов, выработанных фирмами. Их нельзя механически переносить на соответствующие им препараты

отечественного производства, так как, безусловно, имеются различия как в характеристике сырья, так и в деталях технологии производства препаратов, а следовательно, в их активности.

Поэтому при разработке приемов и режимов новой прогрессивной технологии созревания мяса с применением протеолитических ферментов необходима детальная проверка их действия на мясо, его важнейшие компоненты, и в том числе на соединительную ткань.

В Советском Союзе препараты протеолитических ферментов, предназначенные для размягчения мяса, в промышленном масштабе еще не вырабатываются.

Рассматривая наиболее вероятные источники сырья для получения препаратов протеолитических ферментов, следует иметь в виду, что в СССР ограниченное количество дикого дерева разводится на некоторых опытных участках в Закавказье; на этих деревьях плоды окончательно не созревают. Кроме того, на зональной опытной станции Всесоюзного института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) в Кобульти выращивается перуанская папайя дуболистная (*carica quercifolia*), из которой можно получать папайн, не уступающий ферменту, применяемому в США и Западной Европе.

Более перспективным для СССР растительным протеолитическим ферментом следует считать фидин, получаемый из инжира, широко распространенного на юге страны, включая Краснодарский край и Крым. Имеются также данные о возможности применения для этих целей препарата, полученного из проросших соевых бобов [14, 19, 28] и грибов *Panus rudis* [5, 14, 19].

Для размягчения мяса в промышленных масштабах также могут быть применены ферменты животного происхождения — панкреатин, трипсин и ферментная смесь АФС [29]. Кроме того, по доступности сырья, экономической эффективности и возможности организации изготовления ферментных препаратов в широких производственных условиях, безусловно, перспективными являются поиски ферментативных источников из числа непатогенных микроорганизмов, плесневых грибов и актиномицетов.

В каждом отдельном случае выбору того или иного фермента в качестве размягчителя мяса должно предшествовать углубленное изучение его действия и сравнение с другими ферментами.

Не исключена возможность создания комплексного препарата, включающего в себя все или некоторые из указанных ферментов. Литературные данные на этот счет противоречивы. Так, Бавизотто, Миллер и Дьюэн [40] изучали вопрос о совместности протеаз растительного, животного и микробного происхождения. Они исследовали изменения активности в парных сочетаниях фидина, папайна, бромелина, розинов А-4 и П-11, протеазы 15, трипсина и пепсина. Во всех опытах, контролируемых по перевариванию гемоглобина и желатина, был отмечен антаго-

стический эффект различных протеолитических ферментов. Антагонистическое действие было особенно заметным при смешивании протеиназ из грибов с другими ферментами. Авторы предполагают, что антагонизм заключается во взаимном перерывании и присутствии в субстратах ингибиторов.

С другой стороны, Андеркафлер [2], основываясь на исследованиях Американского мясного института, заявил, что при размягчении мяса смеси растительных, грибных и бактериальных протеиназ обладают несомненными преимуществами по сравнению с любым отдельным ферментом.

Вопрос о возможности применения комплексных препаратов для размягчения мяса должен быть исследован дополнительно.

В целом необходимо констатировать, что применение протеолитических ферментов в промышленных масштабах для улучшения консистенции мяса дает значительный экономический эффект, повышает качество и усвояемость мяса и будет способствовать развитию производства мясных полуфабрикатов.

ФИЦИН, ЕГО СВОЙСТВА И МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ

Как нами было сказано выше, наиболее перспективным растительным сырьем для получения препаратов протеолитических ферментов в СССР следует считать инжир, в латексе которого содержится фермент фицин. Различные виды инжира (желтый, фиолетовый, черный и др.) широко распространены в Южных районах страны (особенно в Средней Азии и Закавказье).

О наличии в плодах инжира подобной папану протеазы упоминал еще Буткевич [4] в 1898 г.

Позже Роббинс [67], исследуя латекс незрелых плодов инжира, определил, что содержащееся в нем активное начало, гидролизующее казеин и яичный альбумин, представляет собой белок, легко разрушающийся при нагревании и, следовательно, имеющий ферментативную природу. Автор назвал его фицином (ficin) от латинского названия инжира *Ficus carica*. Краткий обзор свойств фицина и методов его получения нами был сделан несколько ранее [30].

Протеолитическая активность фицина, отнесенная к весу плодов, составляет 2% от активности, отнесенной к весу латекса. Последующими исследованиями были выяснены его основные свойства. Фицин относится к группе псевдоглобулинов [76], имеет молекулярный вес около 26000 [41] и, как показали Уолли и Уайткер [54, 71, 82], при продолжительной выдержке очищенного латекса при pH 5,0 и температуре 5°C кристаллизуется, давая золотистые кристаллы (рис. 69).

Фицин относится к группе папаназа [63]. По данным Лайне-

ра [56], он содержит в своей молекуле, по крайней мере, две сульфидрильные группы, из которых только одна находится в каталитическом участке фермента. Кроме того, фицин содержит одну дисульфидную группу, которая не является существенной для его активности. По своему действию на белки фицин напоминает пепсин, так как катализируемое им расщепление белков доводится только до стадии полипептидов, имеющих отношение аминного азота к общему 25% [36].

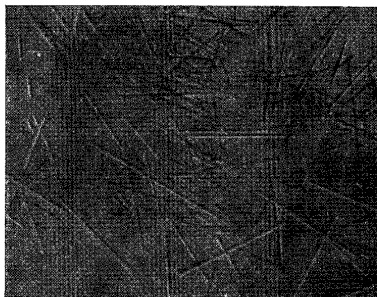


Рис. 69. Кристаллы фицина, полученные Уайткером и сотрудниками.

Фицин осаждается спиртом, ацетоном и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при 50% насыщения и частично адсорбируется на $\text{Al}(\text{OH})_3$.

Температурный оптимум действия фицина находится при 63°C (рис. 70). При проведении опыта брали 200 мг желатина, 4 мг фицина при pH 7,5.

Полная инактивация наблюдается в процессе нагревания при 75°C в течение 1 ч [42] или при 80–85°C в течение 30 мин [88]. Скорость инактивации растворов фицина нагреванием не следует кинетике уравнения первого порядка. Теплота инактивации составляет 71,700 кал на 1 моль. Фермент является устойчивым в интервале pH 4,5–9,5, причем исключение составляет узкий участок около pH 8,0, в котором его устойчивость понижена [44]. Фермент разрушается разбавленной соляной кислотой при pH ниже 2,0.

Согласно Коэну [44], константа седиментации фицина равняется 2,665, а его изоэлектрическая точка находится при pH 9,0, по другим данным [94] — около 5,0.

Как сообщил Накао [63], в латексе инжира содержатся, по крайней мере, три компонента, обладающих протеолитической активностью: протеиназа, пептидаза, действующая на пептон

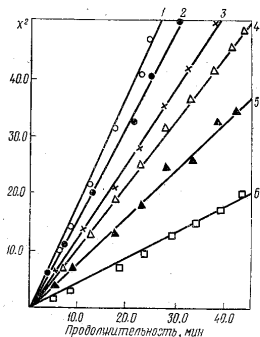


Рис. 70. Влияние температуры на скорость гидролиза желатина фицином (Уайтейкер):
1 — 60,1° C; 2 — 50,1° C; 3 — 45° C; 4 — 40° C;
5 — 35,2° C; 6 — 30,0° C. x^2 — квадрат концентрации переваренного желатина, мг/мл.

Витте, и пептидаза, расщепляющая dl-лейцилдиглицин и бензоилглицилглицин, но не действующая на дипептиды. Первый из этих компонентов представляет наибольший интерес с точки зрения использования фицина в мясной промышленности. Кроме того, Уайтейкер [89] представил данные, указывающие на то, что в неочищенном препарате фицина находятся два фермента, обладающие протеиназной активностью. Эти данные были подтверждены Мессингом и Ван Нессом [59]. Они разделили при помощи электрофореза белковые вещества, содержащиеся в препаратах фицина, на 6 фракций и показали, что 3 из них обладают протеолитической активностью и одна пероксидазная, а две неактивные.

По мнению авторов, выделенные ими 3 протеолитические фракции являются различными по своей природе ферментами. По всей вероятности, неоднородность коммерческих образцов фицина по содержанию в них протеолитических фракций, на которую может оказывать влияние сорт инжира и время сбора латекса, является одной из причин некоторого расхождения дан-

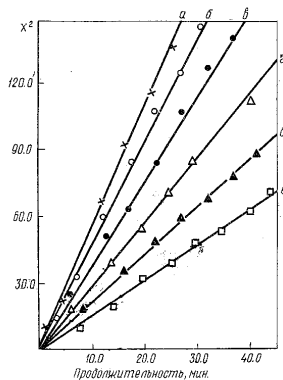


Рис. 71. Влияние pH на скорость гидролиза желатина фицином (Уайтейкер):
a — pH 7,5; б — 7,0; в — 6,0; г — 5,0; д — 4,0; е — 10,0. x^2 — квадрат концентрации переваренного желатина, мг/мл.

ных различных авторов относительно оптимальных условий pH для действия фицина. Так, по Уайтейкеру [88], скорость гидролиза желатина фицином является максимальной при pH 7,5, а по Робинсу [68] и Накао [63] — при pH 5,0—5,5. Оптимум pH для гидролиза казеина, эдестина, яичного альбумина, гемоглобина и некоторых синтетических субстратов колеблется между 6,5 и 7,5 [49, 52, 94].

Данные Уайтейкера [88] о влиянии pH на скорость гидролиза желатина фицином при 35° C представлены на рис. 71. Условия

опыта: 200 мг желатина, 16 мкг фицина при 35° С. Применявшиеся буферные растворы: рН от 3,0 до 6,0—0,20 М цитрат; рН 7,0—7,5—0,20 М фосфат; рН 9,0—10,0—0,20 М борат.

Было также найдено [88, 89], что энергия активации для гидролиза желатина фицином равняется 6050 кал/моль в температурном интервале от 40 до 55° С.

По данным Уайттейкера [90], хранение растворов фицина при —25° С в течение 60 дней приводит лишь к очень незначительной потере его активности, причем замораживание и оттаивание его растворов не оказывают никакого влияния на активность.

В процессе 17-дневного хранения растворов при комнатной температуре теряется 69,6% активности фермента. Полученные автором данные показывают, что фермент становится неактивным при комнатной температуре по двум причинам:

1. Имеется обратимая потеря активности из-за окисления SH-групп.

2. Происходит необратимая потеря активности, связанная с разрушением фермента.

Цистеин активирует фицин в концентрациях 0,005—0,05 М, а KCN дает максимальное активирование при 0,015 М [58], причем активация фицина цистеином происходит во времени и полностью завершается только через сутки.

Активирующими свойствами обладают также димеркаптопропанол, сероводород, версен [52].

Роль сульфгидрильных соединений, HCN и других указанных веществ заключается в предохранении фермента от окисления или соединения с тяжелыми металлами. Мацуяма и Шимура [58] полагают, что HCN активирует пептидазное действие фицина, а цистеин — протеиназное.

По данным Ушино и Кояма [81], соли Sn⁺⁺ в концентрациях 10⁻² М активируют фермент, в то время как Cd, Mg, Al и Sn⁺⁺ в концентрациях от 10⁻⁴ до 10⁻² М не оказывают никакого влияния. Согласно Яффе [53], гипосульфит при концентрации 0,0025 М является активатором фицина, при этом реакция активирования протекает в стехиометрических соотношениях и на 1 моль фицина требуется 1 моль гипосульфита.

С другой стороны, активность свежего латекса инжира, определяемая по свертыванию молока и расщеплению желатина, ингибируется гипосульфитом.

Для аналитических целей весьма важно то обстоятельство, что, как установили Эндрыос и Корнатиер [36], хлороформ не отравляет этот фермент.

Исследования показали, что ингибиторами для фицина являются: полипептиды, образующиеся при гидролизе субстрата [36, 58, 63], перекись водорода [52, 53], соли Cu, Hg, Co и Mn [81], сорбиновая кислота в концентрации 10⁻⁴ М [92], монойод и монохлоркусусные кислоты [36, 52], фенилгидразин [36, 52]. В кровя-

ной плазме содержится ингибитор фицина, активное начало которого имеет белковую природу [57, 80]. Диализ в аэробных условиях в течение суток приводит к полной потере активности фермента, в то время как проведение этого процесса в анаэробных условиях не оказывает влияния на активность [94]. Весьма важным в практическом отношении является вопрос о зависимости протеолитической активности латекса от стадий вегетационного периода и сорта инжира. Некоторые результаты этих исследований, проводившихся Уайттейкером [91], приведены в табл. 54, в которой показано, как влияет степень зрелости плодов различных сортов инжира на содержание в них фицина.

Таблица 54

Сорт инжира	Протеолитическая активность по казену в единицах на 1 ме плода				После сушки на солнце созревших плодов
	очень зеленые	зеленые	восковой спелости	спелые	
California Brown turkey	12,50	10,10	0,38	0,14	—
Kadota некаприфицированный	10,07	3,33	0,81	0,08	0,52
Black Mission некаприфицированный	9,95	6,35	0,76	0,74	0,63
Adriatic	9,37	8,46	1,54	1,20	0,55
Calimyrna	7,07	6,23	0,10	0,11	0,46
Kadota каприфицированный	5,40	2,89	0,09	0	0,52
В среднем	9,06	6,23	0,61	0,38	0,54

Из приведенных данных видно, что протеолитическая активность плодов различных сортов инжира неодинакова. Автор [91] также проверил активность фицина в зеленых плодах 29 разновидностей инжира и показал, что она колеблется в еще более широких пределах, превышая в отдельных сортах в 5 раз минимальное значение. Все эти данные относятся к сортам инжира, выращиваемым в США. Сведений о характеристике отечественных сортов инжира по их протеолитической активности не имеется. Однако Гонашвили [11] сообщил, что все образцы млечного сока инжирного дерева, взятые в Закавказье в августе—сентябре, обладают мощной протеолитической активностью.

Далее из табл. 54 следует, что максимальная активность фицина наблюдается в плодах, находящихся в очень зеленом состоянии. Некоторое снижение активности на единицу веса плодов при их переходе от очень зеленого до зеленого состояния может быть объяснено повышением содержания в них сахаров и относительным уменьшением количества общего азота. Крупные зеленые плоды инжира содержат наибольшее количество фицина на один плод. По мере того, как плоды достигают состояния восковой спелости, их протеолитическая активность

резко снижается во всех изучавшихся сортах. Это снижение уже не может быть объяснено вышеуказанной причиной и, очевидно, при этом имеет место истинное понижение активности фермента.

Однако в большинстве случаев активность не исчезает полностью даже в спелых плодах. Наличие сезонных колебаний в количестве фермента на единицу объема сока инжира было показано также Роббинсом [68].

На основании изучения кинетики катализируемого фицином гидролиза ряда субстратов в различных условиях Хаммонд и Гутфройнд [49] пришли к выводу о том, что окисление SH-групп фицина в $-S-S-$ группы инактивирует фермент. Однако такая инактивация является обратимой, и утраченная активность может быть восстановлена добавлением цистеина или других тиоловых соединений. Как отмечает Уайттейкер [91], фицин в плодах инжира не находится полностью в своей активной форме.

Так, в зеленых плодах активная форма фицина составляет около 75% от его общего содержания и снижается приблизительно до 50% для плодов, находящихся в стадии восковой спелости, и до 20—30% для спелых. Это указывает на то, что по мере созревания фруктов в них уменьшается содержание естественных активаторов фицина (по предположению Яффе [53]) — глютатиона).

Ванг и сотрудники [85], применив гистологический метод исследования, нашли, что фицин, папаин, бромелин и трипсин при их применении в высоких концентрациях (2,5—5,0%) обладают при 23—25° С коллагеназной активностью, в то время как изучавшиеся авторами ферменты микробного происхождения имеют очень небольшую коллагеназную активность или же совсем ею не обладают.

Минья и Таппель [62] сообщили, что фицин, папаин, бромелин, трипсин и розим П-11 в течение 1 ч инкубации при 60° С производят заметное расщепление коллагена высушенной сублимацией двуглавой мышцы бедра. Шерри и сотрудники [73] нашли, что папаин и фицин переваривают коллаген при pH 2,0—4,5. При этом они представили данные о том, что нативный коллаген при низком pH претерпевает обратимое изменение, которое делает его восприимчивым к действию этих ферментов.

Наконец, исследованием Хайнрича и Уайттейкера [51] эти разрозненные данные были подтверждены и, кроме того, выяснено, что фицин не может гидролизовать нативный коллаген. Коллаген может быть подвергнут деградации этим ферментом только после денатурации нагреванием, низким pH или высокими солевыми концентрациями. Денатурация вызывает набухание коллагеновых волокон, в результате чего фермент может проникать в них и расщеплять коллаген. Весьма важно, что повышение концентрации NaCl от 0 до 0,4 М увеличивает за 30 мин раство-

рение коллагена при 35° С и pH 7,0 от 3,2 до 7,02%. По мере увеличения в мясе концентрации NaCl до 0,43 н. возрастает на 120% степень растворения коллагена фицином. Было отмечено увеличение в два раза расщепления коллагена фицином в присутствии 0,2 М аргинина при вышеуказанных условиях инкубации [45].

Следующие данные этих авторов характеризуют интенсивность расщепления коллагена фицином при pH 5,5 и при различной температуре:

Температура инкубации, °С	Растворимость коллагена, %
35	7,31
40	8,90
45	15,00
60	35,40

При сдвиге pH в кислую сторону до 2,6 растворение коллагена фицином при 25—45° С значительно усиливается. Однако при 60° С активирующего действия высокой концентрации водородных ионов не наблюдается. Как отмечают Эльгарбаи и Уайттейкер [45], изменения температуры имеют большее влияние на растворение белков соединительной ткани, чем мышечной. Эти данные объясняют значительное воздействие фицина на коллаген мяса в процессе тепловой обработки последнего.

Фицин имеет также высокую эластолитическую активность [45, 62, 76, 85, 95]. При этом эластин растворяется фицином и бромелином намного легче, чем коллаген при температурах до 40° С [45]. Как было установлено Томасом и Парtridge [76], белки, обуславливающие эту активность при помощи электрофореза, не могут быть отделены от протеолитического фермента, содержащегося в препарате фицина. Следовательно, фицин не содержит отдельного фермента эластазы, а обладает эластолитическим действием. Ятко-Мансо и Уайттейкер [95] пришли к заключению, что степень расщепления фицином пептидных связей в эластине коррелируется с количеством связей, образованных глицином. Растворение эластина фицином ингибируется высокими концентрациями цистеина йодацетата в концентрации 1×10^{-3} М.

Поваренная соль оказывает некоторое положительное влияние на растворение эластина фицином, но даже в ее отсутствие эластин расщепляется этим ферментом [45]. Фицин имеет максимум эластолитической активности при pH 5,5 и 55° С (рис. 72 и 73). Однако, даже при 20° С, эластин в значительной мере гидролизует фицином.

Ятко-Мансо и Уайттейкер [95] отмечают, что фицин растворяет эластин благодаря расщеплению значительного количества пептидных связей. При оптимальных условиях проведения

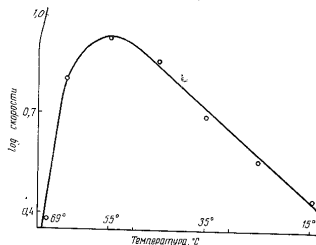


Рис. 72. Влияние температуры на скорость гидролиза эластина фицином при pH 5,5 в течение 20 мин (Ятко-Мансо и Уайтейкер).
Активность определялась нингидриновым методом.

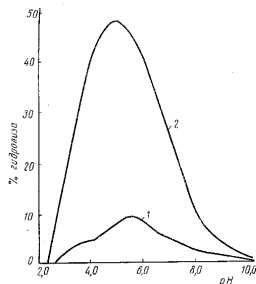


Рис. 73. Влияние pH на скорость гидролиза эластина фицином при 35°C в течение 30 мин (Ятко-Мансо и Уайтейкер):

1 — по нингидриновому методу; 2 — в надосадочной жидкости по содержанию азота и величине экстинкции при 280, мкм.

реакции фицином расщепляются приблизительно 18% пептидных связей эластина. Для растворения эластина фицином не требуется предварительной денатурации субстрата [45].

Фицин так же, как папаин, бромелин, трипсин и розим П-11, очень активен по отношению к гидролизу полноценных белков мяса и быстро переваривает актомнозин [79].

Эль Гарбави и Уайтейкер [45] изучали расщепление щелочерастворимых белков мышечной ткани крупного рогатого скота фицином и бромелином.

Они установили, что имеется небольшое, но заметное растворение белков говяжьего мяса фицином и бромелином даже при 0°С, причем изменение температуры оказывает большее влияние на растворение коллагена и эластина, чем на расщепление щелочерастворимых белков. То же можно сказать и о влиянии поваренной соли.

Способы получения препаратов фицина основаны на добыче латекса и различаются по методам его очистки.

Латекс инжира добывается главным образом в странах Южной Америки, и для его сбора применяют весьма архаический способ: дикорастущие фиговые деревья срезаются и сочащийся из их стволов латекс собирается. При отстое он разделяется на липидный и водный слои, и последний из них высушивается на солнце. Высушенный порошок поступает в продажу как коммерческий препарат фицина [2, 91].

Шеринг [72] запатентовал интересный способ очистки сырых малоактивных порошков папаина, фицина и других аналогичных ферментов путем экстракции активного начала водным раствором роданида калия.

Из полученных таким способом экстрактов ферменты осаждают добавлением спирта в присутствии ионов Zn или других тяжелых металлов при pH 6,5.

Осадок отделяют, подвергают диализу, стерильно фильтруют диализат и получают сухой очищенный препарат лиофилизацией. По сообщению Шеринга, полученные описанным способом препараты имеют полную растворимость в дистиллированной воде и сохраняют свою активность длительное время при 20°С.

Тбилиским институтом вакцин и сывороток [18] получен очищенный двойным переосаждением ацетоном фицин из латекса, добытого путем подсечки листьев инжира. Однако, несмотря на высокий выход фермента (по данным Левандовской [18] около 16%), такой способ, несомненно, чрезвычайно трудоемок и не применим в промышленном масштабе.

Отмеченная способность фицина воздействовать на белковые компоненты как мышечной, так и соединительной тканей делает приготовленные из него препараты высокоценными для улучшения качества мяса.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ РАЗМЯГЧЕНИЯ МЯСА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ НАТУРАЛЬНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ

В предыдущих разделах было показано, что уже имеющиеся в настоящее время сведения об ускорении процесса улучшения консистенции мяса при его обработке препаратами протеолитических ферментов вполне достаточны для практического решения этого вопроса в промышленных масштабах.

Технологические приемы, рекомендуемые различными авторами для искусственного созревания мяса при помощи препаратов протеолитических ферментов, сводятся в основном к следующим способам:

обрызгивание поверхности полуфабрикатов растворами ферментов;

погружение мяса в раствор фермента;
панировка, т. е. нанесение на поверхность полуфабрикатов порошкообразных размягчителей;
внутримышечное шприцевание;
введение ферментного раствора через кровеносную систему при жизни животного.

Продолжительность контакта продукта с ферментом обусловлена скоростью проникновения последнего в глубь мяса. Эта скорость составляет, по данным Ванга и Мейнарда [83], не более 1 мм в течение 1 ч при погружении мяса в раствор, а при обработке порошкообразным препаратом она еще меньше.

По последним сообщениям [43, 37, 38, 39], в США начали применять инъекцию специально приготовленного препарата папаина животным за 3—30 мин до убоя. Этим достигается быстрое и равномерное распределение фермента. При этом расщепление белков мяса ферментом не может начаться до тех пор, пока он не будет активирован путем нагревания продукта, например при его варке.

По этому способу после убоя и разделки туши животных, обработанные ферментом, подвергают охлаждению в обычных условиях. Это приводит к тому, что даже из такого мяса, как лопаточно-плечевая часть, которая до сих пор считалась пригодной только для варки, можно приготовить высококачественные жареные вторые блюда.

Способы обработки отдельных порций натуральных полуфабрикатов погружением или обрызгиванием растворами препаратов протеолитических ферментов, а также нанесения на поверхность продукта этих препаратов в виде порошка при массовом производственном выпуске полуфабрикатов неудовлетворительны из-за своей трудоемкости.

Поэтому мы сравнили [31] различные способы обработки мяса ферментным раствором: нанесение на поверхность порционных кусков, введение через кровеносную систему и в ткани мяса.

Сравнительная оценка этих способов обработки мяса 0,5%-ным раствором препарата фицина была выполнена на полусухожильной мышце крупного рогатого скота. При обработке порционных кусков их резали поперек волокон толщиной 1,5 см.

Для сравнительной дегустационной оценки образцы мяса жарили. Оценка производилась по 5-балльной системе.

Ниже приведены результаты испытаний, где показаны сравнительные результаты обработки мяса фицином различными способами.

Способ обработки мяса ферментом	Средний балл нежности жареного мяса
Кратковременное погружение кусков мяса в раствор фицина	3,0
Нанесение порошкообразного препарата на поверхность куска мяса	3,1
Погружение кусков мяса в раствор фицина на 1 ч	3,3
Шприцевание мяса раствором фицина (5% к его весу)	3,9
Контрольные образцы мяса, не обработанного препаратом	3,0

Эти данные свидетельствуют о том, что погружение и нанесение фермента на поверхность куска в виде порошка дают лишь крайне незначительный эффект. Из-за ограниченного проникновения фермента в толщу куска наблюдается чрезмерное размягчение поверхностных слоев мяса и крайне незначительное — внутренних.

Кроме того, проводились опыты по введению ферментного раствора в задние четвертины говяжьих туш через кровеносную систему.

Наибольший эффект размягчения был достигнут при обработке мяса путем шприцевания ферментного раствора многократными уколами в мышечную ткань. Это и послужило основанием для выбора метода внутримышечного шприцевания в качестве основного способа обработки мяса препаратом протеолитического фермента фицина при производстве натуральных полуфабрикатов.

Для уточнения и отработки этого способа определяли продолжительность выдержки мяса при ферментировании, оптимальную концентрацию вводимого ферментного раствора,

зависимость эффекта размягчения от термического состояния мяса.

С целью изучения скорости поглощения мясом (рассасывания) раствора, охлажденный полусухожильный мускул шприцевали раствором фицина в количестве 5% к весу мяса порциями по 0,5 мл. Мясо выдерживали при комнатной температуре, через определенные промежутки времени брали поперечные срезы и характеризовали поверхность среза.

Было установлено, что через: 15—30 мин на разрезе выступают капли ферментного раствора; 1 ч то же, но в очень малом количестве; 1,5—2 ч на разрезе отчетливо видны следы ферментного раствора; 2,5 ч следы ферментного раствора значительно бледнее; 3 ч 15 м имеются незначительные следы ферментного раствора.

Следовательно, даже при введении раствора очень малыми порциями (0,5 мл) его поглощение охлажденным мясом в течение 3-часовой выдержки неполное.

При шприцевании мяса в производственных условиях и последующей 1—2-суточной выдержке, как правило, на поверхности свежего разреза мяса следов ферментного раствора не обнаруживается и в течение этого срока мясо становится более нежным. При неоднократном повторении опытов пришли к заключению: при шприцевании четвертин и полутуш крупного рогатого скота в производственных условиях для равномерного распределения ферментного раствора и эффективного его воздействия на мясо требуется выдержка мяса в течение 1—2 суток при низкой положительной температуре (2—6°С). Присутствия, однако, были получены при двухсуточной выдержке обработанного фицином мяса.

Для определения оптимальной концентрации ферментного раствора, вводимого в мясо методом шприцевания, поставили опыты на охлажденной полусухожильной мышце. Результаты оценивались дегустацией опытных образцов жареного мяса.

Ниже приведенные данные о результатах воздействия раствора фицина различной концентрации при обработке мяса методом шприцевания показывают, что для концентраций вводимых ферментных растворов от 0,1 до 1,5% нет существенных различий в степени размягчения мяса. Однако в отдельных опытах отмечались случаи, когда при концентрации 0,1% фермент оказывал меньшее действие, чем при концентрации 0,25%.

Поэтому в последующих работах применяли последнюю концентрацию.

Раствор фицина вводился в количестве 5% к весу мяса. Это количество обусловлено способностью мяса удерживать такой объем искусственно введенной жидкости. При этом не происходит излишних потерь мясного сока при нарезке полуфабрикатов

из ферментированного мяса и обеспечивается введение достаточного количества фермента. Последний при данной концентрации хорошо распределяется в мясе.

Концентрация ферментного раствора, %	Средний балл нежности жареного мяса
1,50	3,6
0,50	3,7
0,25	3,7
0,10	3,7
Контрольные образцы мяса, не обработанного препаратом	3,0

Для установления возможности и эффективности обработки мяса фицином при различном состоянии мяса, выполнялись опыты по ферментированию парного, охлажденного и дефростированного мяса, средние результаты которых приведены в табл. 55. В ней показаны эффективность обработки фицином в зависимости от термического состояния мяса.

Таблица 55

Мясо	Нежность мяса, баллы		Увеличение нежности в результате обработки, баллы
	контрольного	обработанного ферментом	
Парное	2,7	4,2	+1,5
Охлажденное	3,0	3,8	+0,8
Дефростированное	3,0	3,6	+0,6

Из этих данных видно, что обработка ферментом мяса, находящегося в различном термическом состоянии, во всех случаях приводит к улучшению его консистенции.

Наиболее сильное размягчение наблюдается при обработке парного мяса и самое слабое — дефростированного. Но даже и в нем эффект отчетливо выражен.

Следовательно, в производственных условиях мясокомбинатов целесообразно вводить ферментный раствор в тушу сразу же после убоя животного и ее первичной переработки. В этом случае процессы охлаждения мясной туши и равномерного распространения вводимого фермента будут совмещены и для ферментации не потребуется дополнительного времени и производственных площадей.

С целью получения продукта гарантированного качества испытывалось также влияние заморозки и хранения в замороженном состоянии на качество ферментированного мяса. Было выявлено, что замораживание с последующим оттаиванием не

усиливает существенно действия фермента на нежность мяса. Кроме того, даже длительное (3-месячное) хранение замороженного после обработки фицином мяса не ухудшило его качества.

Проведенные испытания также установили допустимость хранения ферментированного мяса при низкой положительной температуре 3—4 суток. В течение этого срока не происходили нежелательные изменения органолептических свойств и наблюдалось дальнейшее улучшение консистенции продукта.

Технология обработки мяса фицином сводится к следующему [31]. Для приготовления 1 л раствора фермента берут 2,5 г препарата «фицин» и 20 г поваренной соли. Взвешенное количество фермента вместе с небольшим количеством поваренной соли помещается в мешочек из 3-слойной марли и под струей водопроводной воды тщательно растирается вручную и переносится в тару известного объема. Затем добавляют остальное количество поваренной соли и холодной воды до определенного объема.

При растирании фермента руками следует пользоваться резиновыми перчатками, так как он действует раздражающе на кожу. pH приготовленного раствора должен быть 6,5—7,0. Ферментный раствор готовится за сутки до употребления и хранится при температуре 4—6°С. При необходимости ферментный раствор может храниться при указанной температуре в закрытой таре до 48 ч, хранить раствор при комнатной температуре нельзя, так как при этом происходит частичная инактивация фермента. Затем ферментный раствор заливается в шприц любой системы, применяемый для шприцевания окороков или бекона.

Оставшийся в шприце раствор фермента после шприцевания мяса должен храниться не более одних суток.

Для шприцевания полутуш и четвертин говядины удобно пользоваться перфорированной иглой длиной 200 мм и внутренним диаметром 3 мм.

Шприцевание производится под давлением не более 2—3 атм.

Ферментный раствор вводится внутримышечно в парную полутушу или четвертину, находящуюся в подвешенном состоянии в количестве 5% к ее весу. Количество введенного ферментного раствора определяется по разности веса до и после шприцевания.

Общее количество введенного в полутушу сухого препарата составляет 0,0125% к весу мяса. Шприцевание можно производить в убойном цехе на отводной линии конвейера переработки крупного рогатого скота на участке туалета туш после отделения почечного жира. В этом случае зачищать верхнюю и нижнюю части туши необходимо после шприцевания.

Шприцевание проводят и после туалета туш, если это будет удобнее при имеющейся планировке убойного цеха, или на отдельной нитке подвесных путей в камере охлаждения.

Для равномерного распределения ферментного раствора необходимо сделать на полутуше около 50 уколов. Примерное распределение уколов на полутуше следующее:

Спинальная часть	8
Филей и оковалок	8
Кострец	4
Огузок	20
Лопаточная часть и шея	10

При шприцевании количество ферментного раствора, вводимого во время одного укола, может колебаться от 50 до 100 мл в зависимости от места укола.

Уколы делают в толщу мышц, преимущественно вдоль мышечных волокон. Обработанные ферментным раствором полутуши необходимо выдерживать 48 ч в камере охлаждения при низкой положительной температуре (4—6°С).

При использовании охлажденного и дефростированного мяса обработку ферментом целесообразно проводить после его жиловки с целью экономии производственных площадей с кондиционированием воздуха, а также возможности механизации процесса обработки мяса.

Опыт внедрения способа обработки протеолитическим ферментом бескостного мяса на Останкинском мясоперерабатывающем комбинате показал, что для шприцевания может быть успешно применен многоигольчатый шприц, работающий автоматически. Одновременно с введением ферментного раствора сырье продвигается на машине.

Благодаря обводному каналу раствор находится в непрерывном движении в течение всего цикла шприцевания.

Применение многоигольчатого шприца позволяет обрабатывать ферментным раствором не менее 500 кг жилованного мяса в 1 ч при введении 5—6% раствора к весу мяса и равномерном его распределении. Метод приготовления и концентрации ферментного раствора те же, что и при ферментировании парных полутуш.

Обслуживает шприц один рабочий. После шприцевания выдерживают в течение 2 суток ферментированное сырье при температуре 4—6°С. Для этого на Останкинском мясоперерабатывающем комбинате были успешно использованы тазики вместимостью около 50 кг сырья. Выдержанное ферментированное сырье нарезается на порции. В ходе выработки 40 тыс. порций натуральных полуфабрикатов было установлено, что выход полуфабрикатов из ферментированного мяса увеличивается в среднем на 3,7% по сравнению с контрольными неферментированными порциями сырья.

Проведенные дегустации подтвердили, что приготовленные полуфабрикаты из обработанного ферментом дефростированного

мяса после жарения дают продукт, несколько уступающий по консистенции ферментированному охлажденному мясу, но превосходящий по нежности контрольные образцы из неферментированного мяса.

Таким образом, обработка протеолитическим ферментом дефростированного мяса также приводит к повышению качества приготовленных из него жареных вторых блюд.

Значительный интерес представляют способы предубойной обработки скота, направленные на увеличение нежности мяса. Один из них — прижизненное введение растворов протеолитических ферментов в кровеносную систему животных. Такой способ впервые предложен в 1959 г. группой американских ученых [37, 39, 43].

Прижизненное введение растворов протеолитических ферментов в кровеносную систему является предпосылкой наиболее равномерного распределения препарата в организме, а следовательно, и в туше.

Кроме того, прижизненная обработка туш растворами растительных протеолитических ферментов, по данным американских исследователей, увеличивает количество мяса, пригодного для жарения. Количество бифштеков из поясничной части увеличивается в 2 раза, из спинной части на 25%. Но прижизненное введение в кровь больших доз протеолитических ферментов, которые являются для организма инородными белками, создает угрозу возникновения анафилактического шока. Известно, что шок чаще всего развивается при быстром (3—5 сек) введении препаратов, поэтому мы вводили раствор фицина сравнительно медленно, в продолжение 90 сек [31].

Все подопытные животные (белые крысы, кролики и коровы) непосредственно после введения препарата незначительно возбуждались, дыхание у них учащалось и становилось более поверхностным. Через 15—20 мин показатели возвращались к норме. Туши коров прошли тщательный ветеринарный контроль, никаких отклонений от нормы обнаружено не было. Они подвергались охлаждению в обычных условиях, после чего мясо опытных и контрольных туш (полученных от животных-аналогов) сравнивалось между собой по органолептическим показателям. При дегустации полуфабрикатов из обработанного мяса (бифштекс с насечкой) было отмечено размягчающее действие фицина на мясо при его прижизненном внутривенном введении. Однако этот метод нуждается еще в доработке.

Затем проводились расширенные дегустации мясных блюд, приготовленных из обработанного фицином мяса, и получены данные о размягчении препаратом протеолитического фермента фицина различных частей мясной туши (табл. 36).

Как видно из таблицы, различные части мясной туши подвергаются воздействию фицина не в одинаковой степени. Труд-

Таблица 56

Отрубы	Мышцы	Оценка нежности мяса, баллы		Изменение нежности к исходному, %
		контрольное	обработано ферментом	
Наружная часть задней ноги	Полуперепончатая	3,1	3,7	19,3
	Полусухожильная	3,2	3,6	12,5
Внутренняя часть задней ноги	Стройная	3,6	4,5	25,0
Верхняя часть задней ноги	Глубокая и средняя ягодичная	3,4	4,2	23,5
Тонкий край	Длиннейшая спины	3,6	4,0	11,1
Лопаточно-плечевая часть	Трехглавая плеча, трапециевидная	2,8	4,3	53,6

нее всего размягчается полусухожильная мышца, наиболее сильное размягчение достигнуто при обработке плечевой части и внутренней части задней ноги. Верхняя часть задней ноги и полуперепончатая мышца по степени размягчения занимают промежуточное положение.

В другой серии опытов сопоставляли нежность жареных вторых блюд, приготовленных из различных отрубов, обработанных ферментом говяжьих туш с нежностью блюд из необработанного ферментом толстого и тонкого края этих туш. Опыты имели целью установить возможность кулинарного использования различных частей ферментированных говяжьих туш.

Результаты (средние данные из 3—5 опытов) оценки нежности различных отрубов туш, обработанных препаратом фицина, даны ниже.

Отрубы, обработанные препаратом фицина	Средний балл нежности
Внутренняя часть задней ноги	3,9
Верхняя часть задней ноги	3,8
Наружная часть задней ноги	
полуперепончатый мускул	3,7
полусухожильный мускул	3,0
Боковая часть задней ноги	3,7
Лопаточно-плечевая часть	4,0
Толстый и тонкий край (необработанный, контроль)	4,0

По результатам дегустационных оценок выяснено: после обработки ферментом нежность таких отрубов, как плечевая

часть, внутренняя и верхняя части задней ноги, приближается к уровню, характерному для необработанного ферментом тонкого или толстого края. Следовательно, эти отруба можно использовать для приготовления таких блюд, как антрекоты и ромштексы. Несколько худшие результаты получаются при действии фицина на боковую и наружную части задней ноги. Эти отруба целесообразно использовать для приготовления бифштеков с насечкой, так как они менее мягкие. Отдельной серией опытов установлено, что ферментированные толстый и тонкий край охлажденных туш молодняка по своей нежности приближаются к вырезке и, следовательно, из них могут быть изготовлены натуральные бифштеки и лангеты. При дегустации бифштеков с насечкой средняя балловая оценка этих блюд, приготовленных из обработанных ферментом полусухожильной и полуперепончатой мышц, достигает 3,7 против 3,6 для бифштеков из необработанной ферментом верхней части задней ноги, в основном используемой в настоящее время для их изготовления.

Таким образом, обработка мяса протеолитическими ферментами делает жесткие отруба более нежными и позволяет расширить номенклатуру частей говяжьей туши, пригодных для выработки различных полуфабрикатов.

В табл. 57 приведены технологические схемы порционирования полуфабрикатов из неферментированного и ферментированного мяса из разных частей туши.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что использование говяжьей туши для приготовления натуральных полуфабрикатов в результате обработки мяса протеолитическим ферментом увеличивается с 18,8 до 26,7%.

В результате обработки протеолитическим ферментом удельный вес бифштеков с насечкой (худшего вида полуфабриката) в общей выработке натуральных полуфабрикатов понизился в 2,5 раза и повысился — остальных, лучших видов.

Рассмотренные технологические схемы отработывались на препарате протеолитического фермента фицина. Однако они могут быть распространены без дополнительных исследований на препараты других протеолитических ферментов растительного, животного или микробного происхождения.

Способ обработки говяжьего мяса препаратом протеолитического фермента фицина для улучшения качества натуральных полуфабрикатов был внедрен вначале на Ленинградском мясокомбинате, затем на Останкинском мясоперерабатывающем комбинате и Экспериментальном консервно-колбасном заводе ВНИИ мясной промышленности. В настоящее время он применяется в более широком масштабе на ряде мясокомбинатов. Выработка полуфабрикатов при том же расходе поступающего на обвалку мяса сырья может быть увеличена в среднем на 43%.

Таблица 57

	Неферментированное мясо (старая схема)		Ферментированное мясо (новая схема)	
	Используемые части туши	Выход, % к общему весу полуфабрикатов	Используемые части туши	Выход, % к общему весу полуфабрикатов
Полуфабрикаты				
Бифштекс натуральный	Вырезка	2,55	Вырезка	1,79
Лангет	»	2,40	»	1,68
Антрекот	Тонкий и толстый край	26,88	Тонкий и толстый край, верхняя и внутренняя части задней ноги, трехглавая мышца плеча, предостежная и зостная части лопатки, нижне-задняя треть шеи	31,04
Бифштекс с насечкой	Задняя нога (все части)	47,94	Боковая и наружная части задней ноги	19,66
Лангет из говядины (по 2—3 кусочка весом 40—85 г на порцию)	—	—	Используются те же части туши, что для бифштеков натурального и антрекота	25,59
Азу и беф-строганов	Вырезка, толстый и тонкий край, все части задней ноги	20,23	Используются те же части туши, что и для бифштеков натурального и с насечкой, а также антрекота	20,24
Всего полуфабрикатов		100,0		100,0
		18,78		26,72

Примечание. Вырезка ферментированию не подвергается. Для изготовления бифштеков натурального и лангета могут быть использованы толстый и тонкий край охлажденного ферментированного мяса молодняка.

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА УЛУЧШЕНИЯ КОНСИСТЕНЦИИ ПРИ СОЗРЕВАНИИ БЫСТРООХЛАЖДЕННОГО ГОВЯЖЬЕГО МЯСА ПУТЕМ ЕГО ОБРАБОТКИ ПРЕПАРАТОМ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО ФЕРМЕНТА ФИЦИНА

В последнее время наблюдается тенденция проводить быстрое охлаждение парного мяса в воздушной среде, имеющей температуру ниже 0°С. Это приводит к сокращению продолжительности и уменьшению естественных потерь [6—10, 34].

Очевидно, быстроохлажденное мясо в большей степени, чем медленноохлажденное, будет иметь признаки состояния окоченения, ухудшающие его консистенцию (в том случае, если оно будет потребляться непосредственно после охлаждения).

Отсюда возникает задача — изучить возможности интенсификации процесса улучшения консистенции мяса при его быстром охлаждении.

Нами исследован [31] способ интенсификации этого процесса, основанный на введении протеолитического фермента фицина в парную тушу. Одна полутуша являлась контрольной, а в другую в парном состоянии вводили раствор протеолитического фермента (фицина) путем шприцевания полый иглой.

Результаты выполненных опытов суммированы в табл. 59—66.

В табл. 58 представлены данные об изменениях жесткости неферментированного и ферментированного мяса в процессе его быстрого охлаждения и последующего хранения. В данном случае жесткость определялась по расходу электроэнергии на измельчение образцов вареного продукта.

Таблица 58

Номер опыта	Мясо	Жесткость мяса на 1 г, ат				Уменьшение жесткости к концу хранения в % к исходной величине
		парного	после быстрого охлаждения	через 1 сутки хранения	через 7-8 суток хранения	
2	Неферментированное	3,22	2,99	2,67	2,34	27,3
	Ферментированное фицином	3,22	2,59	2,08	1,98	38,5
3	Неферментированное	2,74	2,63	2,47	2,30	16,1
	Ферментированное фицином	2,74	2,35	1,97	1,59	42,0
4	Неферментированное	3,12	—	3,38	2,60	16,7
	Ферментированное фицином	3,12	—	3,09	1,66	46,8

В опыте 2 температура воздуха при охлаждении —4,7°С, продолжительность охлаждения до температуры 4°С 19,3 ч при скорости движения воздуха между бедер 1,9 м/сек, продолжительность хранения 8 суток при температуре —0,6, относительная влажность воздуха в камере 92%.

В опыте 3 те же условия, но хранение при температуре воздуха в камере 0,6°С.

В опыте 4 температура воздуха при охлаждении —0,7°С, продолжительность охлаждения до температуры 4°С 21 ч при скорости движения воздуха 1,9 м/сек, продолжительность хранения 7 суток при 3°С.

Из приведенных данных видно, что при этом жесткость ферментированного мяса уменьшается значительно интенсивнее, чем неферментированного. Это уменьшение к концу хранения составляет 38,5—46,8 и 16,1—27,3% соответственно к исходной величине.

Кроме того, нужно отметить, что в опытах 2 и 3 жесткость ферментированного мяса через 1 сутки хранения была значительно меньше (2,08; 1,97), чем неферментированного через 8 суток (2,34; 2,30).

Также следует подчеркнуть, что протеолитический фермент оказывает на мясо размягчающее действие на всем протяжении опытного хранения, ускоряя и углубляя процесс созревания.

Таблица 59

Номер опыта	Мясо	Измерение по отношению к расположению мышечных волокон	Сопротивление резанию сырого мяса, кг		
			парного	после быстрого охлаждения	через 7-8 суток хранения
3	Неферментированное	Вдоль	1,02	1,05	—
		Поперек	1,60	1,10	—
		Вдоль	0,91	0,97	0,93
4	Неферментированное	Поперек	1,52	1,08	1,05
3	Ферментированное	Вдоль	1,02	1,04	0,97
		Поперек	1,60	1,16	1,00
		Вдоль	0,91	0,91	0,79
4	Ферментированное	Поперек	1,52	0,80	0,91
		Вдоль	0,91	0,91	0,78

Изменение жесткости мяса нами также характеризовалось по величинам сопротивления резанию. В табл. 59 показано изменение жесткости мяса (сопротивление резанию сырых образцов) в процессе быстрого охлаждения и последующего хранения, а в табл. 60 — сопротивление резанию вареных образцов.

Как видно из табл. 59 и 60, по величине этого показателя образцы ферментированного мяса во всех случаях были более нежными, чем соответствующие им контрольные пробы. При этом к концу хранения сопротивление резанию как сырого, так и вареного ферментированного мяса уменьшилось в большей степени, чем неферментированного.

Таблица 60

Номер опытов	Мясо	Измерение по отношению к расположению мышечных волокон	Сопротивление резанию вареного мяса, кг			
			парного	после быстрого охлаждения	через 1 сутки хранения	через 7—9 суток хранения
1	Неферментированное	Вдоль	—	1,80	—	1,07
		Поперек	2,31	1,81	—	1,41
3		Вдоль	1,54	1,57	1,11	1,13
		Поперек	2,13	1,95	1,74	1,56
4		Вдоль	1,50	1,52	1,23	1,02
		Поперек	1,67	1,74	1,69	1,62
1	Ферментированное	Вдоль	—	0,98	—	0,86
		Поперек	2,31	1,32	—	1,27
3		Вдоль	1,54	—	0,95	0,94
		Поперек	2,13	1,45	1,42	1,47
4		Вдоль	1,50	1,30	0,80	0,80
		Поперек	1,67	1,59	1,18	1,19

Примечание. В опыте 1 мясо охлаждалось при средней температуре воздуха — 5,6° С, относительной влажности воздуха 75,2% и скорости движения воздуха между бедер 3 м/сек. Продолжительность охлаждения (до 4° С в толще бедер) составила 18 ч. Хранение проводилось при температуре — 1,2° С. Условия охлаждения и хранения мяса в опытах 2, 3, 4 см. табл. 58.

При определении сопротивления резанию вдоль и поперек волокон вареного мяса (табл. 60) величина этого показателя в процессе хранения ферментированного мяса в опыте 3 уменьшилась на 38,9 и 31,0% (соответственно) к исходной величине. Для неферментированного мяса это уменьшение в обоих случаях составило 26,8%. В опыте 1 оно составило соответственно 55,0 и 39,0%.

Таким образом, определение жесткости методом измерения сопротивления резанию дало совпадающие результаты с методом электромясорубки.

Результаты хроматографического определения содержания в мясе свободных аминокислот представлены в табл. 61, 62, 63. В них показано изменение содержания свободных аминокислот в мясном экстракте в процессе быстрого охлаждения и последующего хранения неферментированного и ферментированного мяса.

Из этих данных видно, что суммарное содержание определившихся свободных аминокислот в парном мясе до холодильной обработки составляло 65,4—81 мг %. После быстрого охлаждения неферментированного мяса во всех трех выполненных нами опытах оно практически не изменилось, а в ферментированном мясе увеличилось на 3,3—9,8% по сравнению с исходной величиной. Через сутки хранения в 1, 3 и 4 опытах количество свободных аминокислот в неферментированном мясе увеличилось соответственно на 3,0; 7,9; 8,5% по сравнению с их содержанием в парном мясе. Для ферментированного мяса это увеличение составило соответственно 11,6; 19,2 и 30,3%.

Повышение температуры хранения от —1,2° С (опыт 1) до 3° С (опыт 4) приводит к концу хранения к увеличению процента общего количества исследовавшихся аминокислот с 8,1 до 16,0% к исходной величине для неферментированного мяса и с 18,0 до 42,2% для ферментированного. Это увеличение сопровождается более значительным нарастанием количества каждой аминокислоты.

Следует обратить внимание на то, что во всех трех опытах нарастание содержания аминокислот в неферментированном мясе к концу опытного хранения (8,1—16,0%) было меньше, чем в ферментированном мясе после суток его хранения (11,6—30,3%).

Необходимо также отметить некоторые общие закономерности в изменениях отдельных аминокислот в процессе быстрого охлаждения и последующего хранения неферментированного и ферментированного мяса.

В парном мясе и мясе после его быстрого охлаждения отсутствует тирозин, а фенилаланин находится в крайне незначительных количествах или в виде следов. Эти аминокислоты появляются в мясе через сутки хранения.

Таблица 61
(опыт 1)

Аминокислоты	Плпное м-со	После охлаждения				1 сутки хранения				9 суток хранения			
		неферментиро- ванное		ферментиро- ванное		неферментиро- ванное		ферментиро- ванное		неферментиро- ванное		ферментиро- ванное	
		мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %
Аргинин	3,9	3,9	—	3,9	—	4,0	2,5	4,5	15,4	4,0	2,5	4,6	18,0
Аспарагиновая кислота	22,3	22,2	—	22,0	—	23,6	5,8	25,8	15,7	23,2	—	25,8	15,7
Серин	4,5	4,6	2,3	4,8	6,6	4,6	2,3	4,9	8,9	4,8	6,8	5,3	17,8
Глицин	4,4	4,3	—	4,7	6,8	4,5	2,3	5,0	13,7	4,8	9,1	5,2	18,2
Глутаминовая кислота	10,2	10,3	—	11,2	9,8	10,5	2,9	12,0	17,6	12,9	26,5	15,0	47,1
Треонин	2,3	2,3	—	2,6	13,0	2,6	13,0	2,6	13,0	2,8	21,8	3,1	34,8
Аланин	25,2	25,0	—	25,2	—	24,8	—	25,6	—	25,9	2,8	26,0	3,2
Тирозин	—	—	—	0,4	—	—	—	0,5	—	Следы	—	0,7	—
Валин	3,5	3,5	—	3,7	5,7	3,5	—	3,9	11,5	3,8	8,6	4,3	22,9
Фенилаланин	0,5	0,5	—	0,6	20,0	0,5	—	0,6	20,0	0,5	—	0,6	20,0
Лейцин	4,2	4,3	2,4	4,6	9,5	4,8	14,4	5,0	19,1	4,9	16,7	5,0	19,0

Таблица 62
(опыт 3)

Аминокислоты	Плпное м-со, мг %	После охлаждения				1 сутки хранения				8 суток хранения			
		неферментиро- ванное		ферментиро- ванное		неферментиро- ванное		ферментиро- ванное		неферментиро- ванное		ферментиро- ванное	
		мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %
Аргинин	4,5	4,4	—	4,5	—	4,6	2,3	5,3	17,7	4,7	4,5	6,0	33,3
Аспарагиновая кислота	18,3	18,2	—	18,4	—	18,7	2,2	19,3	5,4	18,7	2,2	20,0	9,3
Серин	4,0	3,8	—	4,4	10,0	4,5	12,5	6,4	60,0	4,8	20,0	6,6	65,0
Глицин	4,0	4,2	5,2	4,2	5,0	4,1	2,5	5,3	32,6	4,4	10,0	5,8	45,0
Глутаминовая кислота	8,9	8,9	—	10,3	15,7	10,0	12,3	11,5	29,3	11,0	23,6	15,8	77,5
Треонин	2,0	2,1	5,0	2,8	40,0	2,4	20,0	2,9	45,0	2,8	40,0	3,2	60,0
Аланин	23,3	23,2	—	24,1	3,4	25,5	9,4	25,1	—	25,5	9,4	26,1	12,0
Тирозин	—	—	—	2,1	—	Следы	—	1,2	—	Следы	—	2,5	—
Валин	3,7	3,6	—	3,6	—	4,0	8,2	4,4	18,9	4,2	13,5	4,5	21,7
Фенилаланин	Следы	Следы	—	0,3	—	0,3	—	0,4	—	0,4	—	0,4	—
Лейцин	5,3	5,3	—	5,3	—	5,7	7,6	6,4	20,7	5,9	11,3	6,6	24,5

Таблица 63
(опыт 4)

Аминокислоты	Парное мясо, мг %	После охлаждения						1 сутки хранения				7 суток хранения			
		неферментированное		ферментированное		неферментированное		неферментированное		ферментированное		неферментированное		ферментированное	
		мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %	мг %	увеличение, %
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Аргинин	3,4	3,4	—	4,0	17,7	3,8	11,8	4,8	41,2	4,1	20,6	5,0	47,0	—	—
Аспарагиновая кислота	15,3	15,6	2,0	16,7	9,2	16,6	8,5	18,0	17,6	18,3	19,6	18,0	17,6	—	—
Серин	3,7	3,9	5,5	4,5	21,7	3,8	2,7	5,8	56,8	4,9	32,5	6,7	81,1	—	—
Глицин	4,8	4,6	—	5,8	20,8	4,9	2,0	7,3	52,1	5,9	23,0	8,2	70,8	—	—
Глутаминовая кислота	6,9	6,3	—	8,8	27,5	9,5	37,6	15,0	117,0	10,3	49,2	16,3	136,2	—	—
Треонин	2,6	2,5	—	2,9	11,6	2,9	—	3,4	30,7	2,8	7,7	3,9	50,0	—	—
Аланин	21,6	20,0	—	21,6	—	22,0	1,8	23,0	6,4	21,8	0,9	25,0	15,7	—	—
Тирозин	—	—	—	—	0,5	—	0,3	—	0,5	—	—	0,5	—	—	—
Валин	3,3	3,3	—	3,0	—	3,3	—	3,3	—	3,3	—	4,1	24,3	—	—
Фенилаланин	0,3	0,3	—	0,3	—	0,3	—	0,3	—	0,3	—	0,3	—	—	—
Лейцин	3,5	3,4	—	3,7	5,7	4,0	14,3	14,3	8,6	3,4	—	5,0	43,0	—	—

В процессе хранения неферментированного мяса содержание глютаминовой кислоты, треонина, серина и глицина увеличивается более интенсивно, чем других аминокислот. При этом в ферментированном мясе, кроме вышеуказанных кислот, существенно увеличивается количество аргинина.

Так, например, в опыте 3 к концу хранения ферментированного мяса количество валина увеличилось на 21,7, лейцина на 24,5, аргинина на 33,3, глицина на 45,0, треонина на 60,0, серина на 65,0 и глютаминовой кислоты на 77,5%.

В опыте 4 этот прирост составил еще более значительную величину: глютаминовая кислота 136,2 против 49,2% для неферментированного мяса; серин 81,1 против 32,5%; глицин 70,8 против 23,0% и т. д.

Полученные результаты по накоплению свободных аминокислот в процессе хранения быстроохлажденного ферментированного и неферментированного мяса (так же как и данные по уменьшению жесткости мяса) свидетельствуют о том, что биохимические и физико-химические изменения протекают значительно более интенсивно в ферментированном мясе.

Интенсивность окраски сырого мяса определялась путем измерения светоотражения на монохроматоре УМ-2 по методу Крыловой и Лясковской [17]. Результаты этих определений представлены в табл. 64, в которой приведены данные об интенсивности окраски на различных стадиях созревания.

Выполненные опыты показали отсутствие разницы в интенсивности окраски между ферментированным и неферментированным мясом.

Из приведенных в таблице данных видно, что во всех случаях мясо после быстрого охлаждения имеет более интенсивную окраску по сравнению с исходным парным мясом. Это явление, очевидно, объясняется связыванием кислорода миоглобином с образованием более ярко окрашенного оксимиоглобина. Через одни сутки хранения в большинстве опытов [1, 3, 4] интенсивность окраски продолжала увеличиваться и только в опыте 2 для неферментированного мяса имело место некоторое ее снижение.

К концу семи-девятисуточного хранения в большинстве опытов (1, 2, 4) яркость окраски оставалась более высокой, чем для парного мяса. Однако к этому моменту в опытах 2 и 3 наблюдалось уменьшение интенсивности окраски по сравнению с величиной этого показателя для мяса суточного хранения. Это уменьшение, одинаковое для ферментированного и неферментированного мяса, свидетельствует о наличии начальной стадии окисления гемовых пигментов при длительном хранении мяса выше точки замерзания.

Во всех четырех опытах к концу хранения мясо как ферментированное, так и неферментированное по химическим, микро-

Таблица 64

Номер опыта	Мясо	Длина воли, ммк	Оптическая плотность			
			парное	после быстрого охлаждения	через 1 сутки хранения	через 7—9 суток хранения
1	Неферментированное	Д 545/650	1,41	1,51	1,58	1,62
2			1,38	1,58	1,44	1,41
3			1,48	1,59	1,62	1,38
4			1,41	1,48	1,51	1,58
1		Д 582/650	1,38	1,51	1,55	1,58
2			1,38	1,55	1,44	1,41
3			1,51	1,59	1,62	1,35
4			1,41	1,48	1,48	1,58
1	Ферментированное	Д 545/650	1,41	1,55	1,51	1,70
2			1,38	1,48	1,48	1,44
3			1,48	1,62	1,58	1,35
4			1,41	1,55	1,55	1,62
1		Д 582/650	1,38	1,51	1,48	1,66
2			1,38	1,48	1,48	1,44
3			1,51	1,66	1,55	1,32
4			1,41	1,51	1,55	1,59

биологическим и органолептическим показателям оставалось свежим. При этом существенных различий в степени свежести между тем и другим мясом не было установлено.

Данные, полученные при органолептической оценке жесткости ромштексов из неферментированного и ферментированного быстроохлажденного мяса (табл. 65), указывают на преимущество последнего метода. Следовательно, они подтверждают выводы о более интенсивном течении процессов созревания при охлаждении и последующем хранении ферментированного мяса по сравнению с неферментированным.

В табл. 65 приведены результаты сравнительной дегустационной оценки неферментированного и ферментированного мяса при различных способах охлаждения.

Как видно из табл. 65, наилучшую оценку получило ферментированное мясо после его быстрого охлаждения и последующего полуторасуточного хранения (образец 3). Вместе с этим следует отметить, что различие в нежности ферментированного быстро- и медленноохлажденного мяса через 41 ч с момента начала охлаждения является незначительным.

Таблица 65

Номер образца	Способ и продолжительность охлаждения	Мясо перед охлаждением	Средняя оценка нежности мяса, баллы
1	Быстрое охлаждение (13 ч)	Неферментированное	3,4
2	Медленное охлаждение (41 ч)		3,6
3	Быстрое охлаждение (13 ч)	Ферментированное	4,2
4	Медленное охлаждение (41 ч)	Неферментированное	3,6

* * *

Все приведенные данные о биохимических, физико-химических и органолептических изменениях, происходящих в мясе при его обработке протеолитическими ферментами, дают возможность сделать ряд обобщений.

В результате обработки трипсином в мясе возрастает содержание связанной воды. Следовательно, этот процесс протекает в таком же направлении, как и во второй фазе созревания мяса в естественных условиях, но значительно более интенсивно.

В результате обработки охлажденного и дефростированного мяса фицином его перевариваемость *in vitro* пепсином и панкреатином при последовательном их воздействии увеличивается в среднем на 7,0%.

Интенсивность протеолитического воздействия различных ферментных препаратов на белки мяса, оцениваемая по накоплению небелкового азота, не совпадает с интенсивностью вызываемого ими размягчения мышечной ткани.

При обработке мяса препаратами фицина и трипсина в белках фракции миозина накапливаются N-концевые группы тех же аминокислот, которые освобождаются при созревании мяса. Особенность действия указанных ферментов: кроме N-концевых групп лейцина и дикарбоновых кислот, при действии трипсина образуются значительные количества остатков глицина, а при действии фицина — серина.

В результате воздействия на мясо фицина суммарное количество шести изучавшихся N-концевых аминокислот в белках фракции миозина превышает величину этого показателя для созревшего мяса шестисуточного хранения при 8—10° С.

Под воздействием вводимых в мясо препаратов протеолитических ферментов наблюдается увеличение лабильности компонентов внутримышечной соединительной ткани (ее фибриллярных белков и основного вещества), увеличение развариваемости коллагена и уменьшение содержания во внутримышечной соединительной ткани основного вещества.

Степень воздействия препаратов трипсина, субтилопептидазы и фицина на компоненты внутримышечной соединительной

ткани и на физико-химические показатели мяса неодинакова. По убывающей интенсивности воздействия исследованные препараты ферментов располагаются в следующем порядке: фичин > субтилопептидаза > трипсин. Это свидетельствует о преимуществе фичина перед другими исследовавшимися препаратами ферментов в качестве средства для улучшения консистенции мяса.

По своему воздействию на белки мяса исследовавшиеся препараты протеолитических ферментов имеют следующие особенности: трипсин способен интенсивно воздействовать на полноценные белки мышечных волокон и растворять основное вещество внутримышечной соединительной ткани, не увеличивая лабильности его нерастворившейся части. Субтилопептидаза, напротив, проявляет действие главным образом в отношении увеличения лабильности этого компонента. Фичин, активно действуя на полноценные белки мышечных волокон и лабильность основного вещества, одновременно значительно уменьшает содержание этого компонента внутримышечной соединительной ткани и повышает развариваемость коллагена.

При обработке мяса препаратами протеолитических ферментов и при его созревании в условиях низких положительных температур биохимические процессы, улучшающие его консистенцию, являются в основном одноклеточными. Они характеризуются как начальная стадия протеолиза миофибриллярных белков и компонентов внутримышечной соединительной ткани (ее фибриллярных белков и основного вещества).

По сумме биохимических показателей, определяющих состояние миофибриллярных белков и компонентов внутримышечной соединительной ткани, по физико-химическим признакам, характеризующим белковую систему мяса в целом, а также по гистологическим и органолептическим показателям, обработанное фичином мясо двухсуточного хранения достигает уровня, свойственного созревшему продукту (хранившемуся в течение 6 суток при температуре 8—10° С).

Выявлены оптимальные технологические условия проведения процесса ферментирования мяса, предназначенного для выработки натуральных полуфабрикатов.

Технологический процесс обработки мяса путем шприцевания растворов протеолитических ферментов в полутуши, четвертины и бескостные отруба не требует специального оборудования и может быть осуществлен в производственных условиях крупных и средних мясокомбинатов. Использование говяжьей туши для приготовления натуральных полуфабрикатов в результате обработки мяса фичином увеличивается в среднем на 43% при значительном повышении удельного веса лучших их видов.

В процессе семи-девятидневного хранения при температуре, близкой к 0° С, жесткость ферментированного быстроохлажден-

ного мяса уменьшается на 38,5—46,8% по отношению к исходной величине, в то время как неферментированного — на 16,1—27,3%.

Протеолитический фермент (фичин) улучшает консистенцию мяса не только в процессе его тепловой обработки, как полагали ранее, но и на всем протяжении хранения мяса при температуре, близкой к 0° С, ускоряя и углубляя процесс созревания.

В процессе быстрого охлаждения неферментированных туш содержание определявшихся свободных аминокислот и их сумма практически не изменяются.

Содержание свободных аминокислот в ферментированном быстроохлажденном мясе через 1 сутки хранения превышает величину этого показателя в неферментированном мясе 8-суточного хранения.

В результате повышения температуры хранения от —1,2° до +3,0° С прирост общего количества исследовавшихся аминокислот к концу процесса увеличивается в два раза и более.

Во время хранения неферментированного мяса содержание глютаминовой кислоты, треонина, серина и глицина увеличивается более интенсивно, чем других аминокислот. При этом в ферментированном фичином мясе, кроме указанных, весьма существенно увеличивается количество аргинина.

Не обнаружены существенные различия в интенсивности окраски ферментированного и неферментированного мяса на всех стадиях его холодильной обработки в изучавшихся условиях.

Ферментированное мясо после его быстрого охлаждения в течение 13 ч и последующего полуторасуточного хранения получило при дегустации более высокую оценку, чем быстро- и медленноохлажденное неферментированное мясо. Следовательно, обработка парного мяса раствором протеолитического фермента фичина может быть рекомендована для ускорения процесса улучшения консистенции мяса при его хранении после быстрого охлаждения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В этой главе дано описание методов исследования мяса, позволяющих установить показатели, характеризующие его нежность, вкус и аромат.

Они крайне необходимы для изучения биохимических изменений, происходящих при созревании, замораживании, оттаивании, посоле, сушке и ряде других технологических процессов. Но, к сожалению, не нашли должного отражения в имеющейся литературе.

Органолептический метод определения качества мяса имеет существенные недостатки. Органолептически определяемое то или другое свойство продукта чаще всего бывает комплексом ряда ощущений. Отсюда его трудно выразить одним показателем, полученным объективным методом.

Например, органолептическое определение нежности мяса разжевыванием включает в себя раскусывание образца резцами, раздавливание его коренными зубами, разрыв раздавленных кусков на более мелкие фрагменты и их размалывание или растирание до состояния более или менее однородной массы. Дегустаторы оценивают жесткость мяса по сумме этих показателей, учитывая также длительность разжевывания и количество остатка, неподдающегося дальнейшему измельчению. Трудно создать прибор, который бы всесторонне учитывал эти различные свойства мяса.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТИВНЫХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖЕСТКОСТИ МЯСА

При применении многочисленных приборов получаемые результаты неизбежно отличаются в той или другой степени от результатов дегустационной оценки.

В связи с этим необходимо согласиться с мнением Бейт-Смита [50] о том, что при использовании механических приборов для измерения показателей, характеризующих нежность мяса, полученные данные должны быть подтверждены органолептической

оценкой тех же образцов, т. е. должны быть близкими к результатам дегустационной оценки. Кроме того, к этим приборам предъявляются следующие требования [40, 80, 143]: они должны давать показания быстро и легко; быть простыми в обслуживании; обеспечивать необходимую точность измерения; результаты должны быть воспроизводимыми; подвергающиеся испытаниям образцы должны быть небольших размеров.

Большинство предложенных приборов рассчитано на испытания при одной и той же температуре и одинаковых по размерам образцов (в некоторых случаях с одинаковой ориентацией мышечных волокон). Кроме того, они должны быть также доступными и недорогими.

Описанные в литературе приборы, предназначенные для этих целей, могут быть подразделены по принципу их действия на следующие группы.

Приборы, определяющие сопротивление: на разрыв — динамометры [80], погружению иглы любой формы — пенетromетры [33], резанию — консистометры [21, 129, 146, 150, 14, 25, 133, 147], измельчению [55, 65, 111, 134], продавливанию образца через отверстие [44, 59, 94, 140].

Приборы, основанные на принципе смещения (среза) образца в камере постоянного объема [40], измеряющие эластичность мышечных волокон [105], воспроизводящие жевательные движения челюстей человека [121].

Кроме приборов, применяются методы определения сопротивления образца изменению формы под давлением [8, 35, 73, 77, 149].

Динамометры, пенетromетры и приборы, измеряющие эластичность мышечных волокон, не нашли широкого применения, так как получаемые результаты недостаточно совпадают с органолептической оценкой.

Кратко остановимся на основных приборах.

Консистометры с зубовидными клиньями. Володкевич [146] предложил инструмент, в котором два тупых металлических клина служили для «раскусывания» образца вареного мяса. Образец помещался между этими клиньями, один из которых был закреплен, а другой двигался через образец. При этом непрерывно регистрировалась величина давления на образец.

В приборе Курко [21] в отличие от прибора Володкевича зубья были острыми. Усилия, необходимые для раскусывания образцов, передавались на пружину, соединенную с записывающим аппаратом.

Меньшие значения цифр, характеризующие усилие, затрачиваемое на раскусывание образца, относились к нежным сортам мяса, а большие — к более жестким. Как отмечает автор, цифровые значения для хорошего, нежного мяса в 4—7 раз меньше значений для очень жесткого мяса. Прибор фиксирует такие измене-

ния, которые субъективными определениями отметить не удается.

Как указывается в литературе [80], нельзя надеяться на то, что результаты, полученные на приборах, основанных на этом принципе, дадут полную корреляцию с органолептически определяемой нежностью, так как при этом воспроизводится только первое раскусывание во рту. Однако величина этого усилия является полезным показателем жесткости.

Консистомеры, определяющие сопротивление резанию. Прибор Вернер-Братцлера [53, 147] в настоящее время в различных

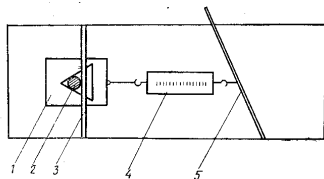


Рис. 74. Принципиальная схема действия прибора для измерения усилия резания по Вернеру-Братцлеру, изготовленного ИНХ им. Пеханова:

1 — треугольный нож; 2 — образец мяса; 3 — полоска для образца; 4 — динамометр; 5 — рычаг для приведения прибора в действие.

модификациях наиболее широко применяют для определения жесткости мяса.

Принципиальная схема консистомера, учитывающего сопротивление резанию, приведена на рис. 74.

Максаковым и сотрудниками [25] был предложен усовершенствованный прибор, действие которого также основано на принципе измерения величины сопротивления резанию, но устранены некоторые недостатки, присущие ранее описанным образцам.

Основная часть прибора Максакова — режущая стальная пластина толщиной 0,5 мм, имеет квадратное отверстие 27×27 мм. Режущие кромки квадратного отверстия расположены под углом 45°. Необходимое для разрезания образцов усилие достигается при насыпании дробы с определенной скоростью в контейнер, укрепленный на рычаге ножа. При помощи электросекундомера регистрируют предельное время, необходимое для его резания. Величину сопротивления подсчитывают по формуле.

Результаты, полученные на этих приборах, в большинстве случаев удовлетворительно коррелируются с дегустационной оценкой образцов мяса, подвергнутого тепловой обработке, и довольно точные [78, 80, 139, 140].

Однако Бейли и сотрудники [44] отметили, что корреляция между величинами сопротивления резанию, замеренными на приборах типа Вернер-Братцлера, и дегустационной оценкой бывает очень различной и колеблется в пределах от очень высокой до очень низкой. При этом точность определения может быть увеличена, если производится достаточное число замеров [83]. Гурвич и Тишер [83] испытывали прибор Вернер-Братцлера по трем определяемым на нем показателям, характеризующим нежность мяса: по максимальному усилию сопротивления резанию, по общей продолжительности времени, необходимого для разрезания образца, и по характеру наклона кривой на диаграмме сопротивление резанию — время.

При этом авторами было установлено, что применяемая в настоящее время в качестве критерия нежности по Вернер-Братцлеру максимальная величина усилий, затрачиваемых на разрезание образца, не является лучшим показателем, который может быть получен на приборах этого типа. Наклон кривой на диаграмме сопротивление резанию — время лучше характеризует нежность мяса, так как дает более низкий составной коэффициент вариации, чем в предыдущем случае (4,79 и 7,41% соответственно).

Авторы пришли к выводу, что прибор Вернер-Братцлера должен быть переконструирован с целью уменьшения величины экспериментальных ошибок, зависящих от его конструкции.

Определение усилий резания по Кремеру [94]. Кремер и сотрудники [94] применили гидравлическое давление для продавливания ряда металлических пластин через испытуемый образец, находящийся в закрытой камере. Пресс измеряет максимальное давление, необходимое для прохождения режущих пластин через него. В последнем образце этого прибора величина режущего усилия учитывается по расходу электроэнергии. Установлена очень высокая степень корреляции между показателями на этом приборе и органолептической оценкой нежности мяса [44, 136, 151].

Берилл и сотрудники [59] сравнили между собой результаты, получаемые на приборах Кремера и Вернер-Братцлера, и сопоставили их с данными дегустационной оценки нежности тех же образцов ряда мускулов. При этом были получены удовлетворительно совпадающие результаты.

Определение нежности мяса путем замера расхода электроэнергии, затрачиваемой на измельчение образца. Мянда и Таппель [111] для определения нежности мяса применили электромагнитную сорбучку и в процессе измельчения ею образца мяса регистрировали расход энергии по показаниям амперметра. Площадь под

вычерченной самописцем кривой пересчитывалась в количество энергии, израсходованной на измельчение единицы веса образца.

Потребление энергии мясорубкой без нагрузки должно быть небольшим по сравнению с ее расходом в процессе измельчения образца.

Типичная диаграмма затраченных на измельчение образца усилий представлена на рис. 75 [38].

Бокиан, Энглемайер и Сатер [55] находят, что полученные результаты хорошо соответствуют данным органолептической оценки. При этом наиболее высокие коэффициенты корреляции получаются, когда испытуемое мясо измельчается немедленно после приготовления.

Расхождение между параллельными пробами составляет 10%. Колебания результатов, получаемых при измерении жест-

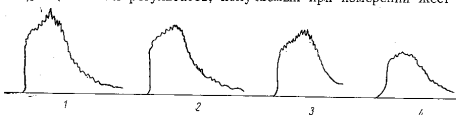


Рис. 75. Диаграмма количества энергии, затраченной при измельчении электромясорубкой различных образцов мяса (Соловьев и сотрудники): 1 — парного; 2 — стученого, обработанного ферментом; 3 — 4-стученого, не обработанного ферментом; 4 — 8-стученого, обработанного ферментом.

кости мяса на электромясорубке, как нашли Шомен, Белл и Болл [134], вызываются главным образом изменением температуры мотора, непостоянностью напряжения в сети и различиями в трении вращающихся частей мясорубки. Для устранения этих причин авторы рекомендуют предварительно прогреть электромотор и включить в цепь регулятор напряжения, а для устранения различий в величине трения вращающихся частей — вставить в прижимное кольцо головки мясорубки ограничительную шпильку. Счетчик для измерения расхода энергии должен иметь точность 0,3%. С учетом этих рекомендаций средний коэффициент отклонений по данному методу был 5,57% по сравнению с 19,4%, полученными на приборе Вернер-Братшлера.

Однако Эмерсон и Пальмер [65] считают, что прибор Вернер-Братшлера дает результаты, лучше коррелирующие с органолептической оценкой, чем определение жесткости на электромясорубке.

Хеннинг и сотрудники [78] отмечают: в отличие от величин сопротивления резанию измерение нежности мяса по расходу энергии на измельчение образца не показало существенной разницы между образцами мяса в зависимости от методов откорма животных.

Нежность мяса с помощью электромясорубки нами определялась по такой методике. Электромясорубку включают в электросеть через стабилизатор для поддержания постоянного напряжения. Напряжение контролируют вольтметром. К мясорубке подключают самопишущий прибор, на котором записываются усилия, затраченные на измельчение мяса. Его в свою очередь включают в электросеть самостоятельно при 5 а.

Скорость движения ленты самопишущего прибора устанавливают на 3600 мм в час.

Для каждого определения используют мясо от одной и той же мышцы. После удаления с поверхности видимых наслоений жира и соединительной ткани мясо варят в собственном соку целым куском (150—200 г) на кипящей водяной бане в стакане, закрытом полиэтиленовой пленкой. Продолжительность варки 1,5 ч.

По окончании варки мясо слегка обсушивают фильтровальной бумагой и охлаждают до комнатной температуры. Перед измерением жесткости остывшее мясо измельчают ножом как можно мельче (размеры кусочков 2×2 или 3×3 мм).

Навеску подготовленного таким образом испытуемого мяса весом в 100 г пропускают через электромясорубку в течение определенного времени (30 сек), и усилие, затраченное на измельчение мяса, записывают в виде кривой на ленте самопишущего прибора (необходимо обеспечить непрерывное и равномерное поступление кусочков испытуемого образца мяса на шнек мясорубки). Мясо, прошедшее через решетку мясорубки в течение 30 сек, взвешивают, площадь под кривой замеряют планиметром и рассчитывают усилия, затраченные на измельчение образца. Для каждого образца выполняют не менее 3 параллельных определений. На ленте самопишущего прибора по оси абсцисс откладывается время в секундах. При скорости движения ленты 3600 мм в час каждое деление будет соответствовать 10 сек.

По оси ординат откладывается сила тока в амперах (при установке ручки арретира на 5 а каждое деление равняется 0,2 а).

Следовательно, на применявшейся нами ленте самопишущего прибора площадь в 1 см^2 соответствовала 5 а/сек. С учетом этого усилия, затраченные на измельчение образца, рассчитывались по формуле:

$$x = \frac{Sv}{gt} \text{ ам/г,}$$

где S — площадь под кривой, см^2 , умноженная на 5 а/сек;

v — напряжение тока электросети, в;

g — навеска прошедшего через решетку мясорубки мяса, г;

t — время, сек, в течение которого пропускается через мясорубку навеска мяса.

Метод определения нежности мяса на приборе Фомина [40]. Метод основан на принципе среза образцов мяса при их постоян-

ном объеме. Прибор состоит из рабочего органа с механическим приводом, системой автоматики и изгибающейся балки с тензодатчиками, сухого элемента и электронного потенциометра. При испытании образцов возникающие в них напряжения в виде пиков регистрируют самопишущим потенциометром. По характеру кривых и высоте пиков определяют максимальные напряжения среза и работу, затраченную на срез образцов.

Зубовидный тензодетектор Проктора [121]. Проктор и сотрудники [121] предложили прибор, рабочим органом которого являются механически действующие искусственные челюсти человека, воспроизводящие частоту и характер движений при разжевывании пищи. Сопротивление такому движению челюстей, вызванное размещением между зубами испытуемого образца, передается на натяжное приспособление и регистрируется осциллографом на протяжении всего процесса разжевывания. Позже авторы внесли в конструкцию прибора некоторые изменения [122], позволяющие получать диаграмму затраченных усилий.

Очевидно, этот прибор при условии удачного конструктивного решения будет в наибольшей степени характеризовать нежность мяса. Однако в литературе пока еще не имеется данных об анализе результатов его работы.

Измерение нежности мяса при помощи пресса Сперринга [140]. Сперринг, Плятт и Гайнер [140] сконструировали прибор, в котором образцы мяса помещают внутрь цилиндра. Силой гидравлического давления мясо продавливается через отверстия диаметром 3 мм в дне цилиндра, и величина давления в тот момент, когда мясо начинает вытесняться через эти отверстия, служит мерой жесткости образца. Проверка показала наличие высокой степени корреляции с органолептической оценкой вареных образцов (коэффициент корреляции 0,899) и с показаниями прибора Вернера-Братилера (коэффициент корреляции 0,785). Были также установлены существенная корреляция между сырыми и вареными образцами и значительные различия в показаниях прибора для трех характерных мускулов говяжьей туши.

Определение нежности мяса методом прессования [73, 77, 149]. По этому методу жесткость характеризуется величиной сопротивления образцов сырого мяса изменению формы при прессовании и находится в обратной зависимости от размеров площади пятна спрессованной пленки.

Мы также применяли этот метод, модифицированный Воловinsky [8], с некоторыми изменениями, внесенными нами.

Для измерения нежности навеска измельченного сырого мяса 0,3 г помещалась между параллельными, установленными на строго горизонтальную плоскость, пластинами изplexiglas размером 11 × 11 × 0,5 см на обеззоленный среднефильтрующий фильтр (с белой полосой) и подвергалась давлению груза весом 1000 г в течение 10 мин.

Образующийся в результате сжатия под давлением тонкий слой мышечной ткани имеет тем большую поверхность, чем мягче ткань, и, наоборот, тем меньше, чем она более жесткая.

Площадь отпрессованного мяса, измеренная планиметром, характеризует нежность испытуемого образца. Вычисление нежности производится по формуле

$$N = \frac{S \cdot 100}{0,3N} \text{ см}^2/\text{г общего азота в мясе, \%}$$

где S — измеренная планиметром площадь, см^2 ;

N — содержание общего азота в мясе, %.

Метод прост в исполнении, не требует какого-либо специального оборудования и дает воспроизводимые результаты в пределах до 5—6%.

Соколов и Эль-Дашлуты [35] сравнивали полученные этим методом результаты с величиной сопротивления резанию сырого мяса (баранины) на различных этапах его послеубойного автолиза при температуре около 0°С. Они представлены на рис. 76.

Как отмечают авторы, из этих данных отчетливо видно сходство в изменениях рассматриваемых характеристик. Следовательно, есть основание считать этот условный метод определения нежности мяса пригодным для приблизительного суждения при изучении ее динамики и для получения сравнимых относительных величин.

Этот метод может быть применен к вареному гомогенизированному мясу, к которому добавлена вода в количестве, эквивалентном 60% веса образца, как утверждают Гамм и Детерейдж [77].

Итак, описанные в литературе приборы для определения нежности мяса воспроизводят только какую-либо одну сторону про-

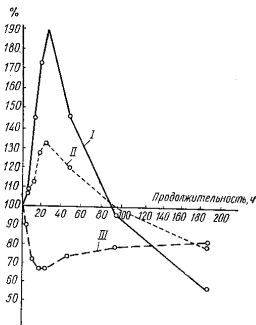


Рис. 76. Сравнительная динамика изменений усилия резания и нежности (пластичности), определяемая по Грау и Гамму по данным Соколова и Эль-Дашлуты: I — напряжение среза; II — усилие резания; III — пластичность.

цесса разжевывания продукта зубами. Поэтому результаты неизбежно отличаются в той или другой степени от дегустационной оценки тех же образцов.

Из числа применяемых наибольшего внимания заслуживают метод определения величины сопротивления резанию и метод замера расхода электроэнергии при измельчении образца электромясорубкой.

Предложенный Грау и Гаммом метод прессования, хотя и условный, пригоден для приблизительного суждения об изменении нежности сырого мяса, если необходимо изучить динамику изменений и получить сравнимые между собой относительные величины.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ В МЯСЕ СВОБОДНОЙ И СВЯЗАННОЙ ВОДЫ ПО МЕТОДУ ГРАУ И ГАММА [73]

Количество свободной и связанной воды определяют одновременно с измерением жесткости мяса прессованием по методу этих же авторов [73] в модификации Воловиной [8].

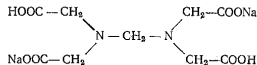
Разность между общей площадью пятна и площадью, занимаемой спрессованным мясом в квадратных сантиметрах, умноженная на коэффициент 8,4 (среднее содержание воды в миллиграммах на 1 см² поверхности пятна), соответствует количеству свободной воды (сока, выделяемого прессованием) в миллиграммах во взятой навеске.

Содержание связанной воды вычисляют путем вычитания из 100 количества свободной воды в процентах к общей влаге мяса. Точность определения $\pm 5,0 - 6,0\%$.

ТРИНОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ В МЯСЕ КАЛЬЦИЯ

За последнее время в аналитической практике приобрели широкое распространение тринометрические методы титрования. При их применении значительно упрощаются методы анализа.

Трилон Б представляет собой динатриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты



Характерная особенность соединения — способность образовывать с большинством катионов и, в частности, со щелочноземельными металлами очень прочные, растворимые в воде комплексные соединения. Как отмечают Башкирцева, Савиновский,

Стоякель и Якимец [3], 0,1 М водный раствор этого соединения имеет pH 5,5. Он вполне устойчив и сохраняется без изменения в течение неопределенно долгого времени.

Обзорные статьи по применению в аналитической химии комплексометрических методов определения даны Бабко [2], Горюхиной [13], Сняжковой [32].

Применение трилона Б для определения жесткости воды описано Лурье и Николаевой [23], а также Архангельской [1].

Содержание кальция в различных материалах при его одновременном присутствии с магнием, железом и другими катионами определяют разработанными и предложенными модификациями тринометрического метода с применением различных индикаторов.

Так, Бидерман и Шварценбах [52] предложили проводить титрование кальция в присутствии магния и цинка трилоном Б при pH 11,0—12,0, применяя в качестве индикатора мурексид. Кван-Лю-Шень и Брей [95] также определяли содержание Са в почвах тринометрическим титрованием в присутствии мурексида. Флашка и Голасек [67] этим же методом установили содержание кальция в крови.

Архангельская [1] рекомендовала при одновременном присутствии кальция и магния сначала определять сумму этих двух катионов тринометрическим титрованием, затем осаждают кальций оксалатом и после этого проводят титрование магния. В этом случае содержание кальция будет равно разности между первым и вторым титрованиями.

Для характеристики точности метода и установления влияния присутствия ионов Mg и Fe на результаты, нами были выполнены проверочные определения, в которых Са, Mg и Fe брали в тех соотношениях, которые имеются в золе мяса. При этом были получены следующие результаты:

когда брали 79,68 мкг Са в присутствии 180,98 мкг Mg и 61,28 мкг Fe, то обнаруживали 76,68 мкг Са, или 96,2% к первоначально взятому его количеству.

Результаты показывают, что метод обладает достаточной точностью и присутствие ионов Mg и Fe в тех количествах, в которых они содержатся в золе мяса, не мешает определению микроколичеств Са.

Тринометрический метод основан на образовании понами кальция с мурексидом малодиссоциированного, прочного при pH 10—12 соединения, которое окрашено в малиновый цвет; при титровании трилоном Б ион Са связывается в еще менее диссоциированный комплекс. Поэтому когда все свободные ионы кальция связаны, трилон извлекает кальций из комплексного соединения с мурексидом. При этом фиолетовая окраска раствора в щелочной среде обуславливается окраской свободного мурексида.

Реактивами при этом методе служат:

1. 0,01 н. раствор трилона Б: его готовят растворением 1,86 г трилона Б в 1 л бидистиллята. Более слабые концентрации готовят соответствующим разведением.

2. Раствор мурексиды: 0,03 г мурексиды растворяют в 10 мл бидистиллята. Раствор сохраняют в темном месте и готовят на срок до 4 дней.

3. 1 н. раствор NaOH готовят на бидистилляте.

4. Индикатор алizarин — гельб R при pH 10,1—12,1 дает переход окраски от желтого до красного окрашивания. Готовят 0,1% раствор в бидистилляте.

5. Раствор CaCl₂ для установки титра.

CaO готовят следующим образом: 25 г CaCl₂·6H₂O растворяют в 25 мл воды; раствор фильтруют, нагревают до 80° С и обрабатывают, добавляя в несколько приемов, профильтрованным раствором 12 г NaOH в 25 мл воды. Горячую кашицу немедленно переносят на воронку Бюхнера и промывают при отсасывании вначале 0,1%-ным раствором NaOH для устранения примеси NaCl, которая повышает растворимость Ca(OH)₂, (прибавление NaOH препятствует растворению), а затем дистиллированной водой до исчезновения реакции на ион Cl⁻. Отмытый осадок просушивают при 80—100° С, а высушенный осадок прокаливают в муфеле до постоянного веса.

Для приготовления 0,1 н. раствора CaCl₂ навеску 2,8040 г CaO растворяют в 68 мл 6 N HCl и объем доводят бидистиллятом до 1 л. Для титрования, путем разбавления в 50 раз, готовят 0,002 н. раствор CaCl₂.

Определение ведут таким путем. Навеску измельченного мяса 4 г сжигают в платиновом тигле до полного озоления. В конце озоления золу смачивают 0,5 мл воды и после выпаривания ее на водяной бане обрабатывают несколькими каплями пергидроля. Зола должна иметь белый цвет, допускается наличие сероватого оттенка.

После этого золу смачивают 2 мл 1 н. соляной кислоты, которую затем выпаривают на водяной бане почти досуха. Полученные таким путем хлористые соли растворяют в бидистиллированной воде и переносят в мерную колбу на 50 мл. Из этого объема берут 25 мл в эrlenmeyerовскую колбу на 250 мл и к отмеренному количеству прибавляют 75 мл бидистиллята и 5 мл 1 н. раствора NaOH (pH проверяют индикатором алizarин-гельб R, 1 капля раствора индикатора окрашивается в красный цвет от 1 капли испытуемого). Затем к испытуемому раствору добавляют 2—5 капель раствора мурексиды, после чего его медленно титруют (хорошо взбалтывая) 0,002 н. раствором трилона Б до перехода малиновой окраски в лиловую.

Формула расчета

$$Ca = \frac{0,04008 K \cdot 50 \cdot a \cdot 100}{b \cdot 25} \text{ мг } \%,$$

где 0,04008 — количество мг Ca в 1 мл 0,002 н. раствора;

a — количество мл 0,002 н. раствора трилона, пошедшее на титрование;

b — навеска мяса, г;

K — коэффициент поправки раствора трилона.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ИЗМЕНЕНИЯ В УГЛЕВОДНОЙ СИСТЕМЕ МЯСА

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА ГЛИКОГЕНА ПО ФЕЛЮГЕРУ В МОДИФИКАЦИИ ВИЛЬШТЕТТЕРА

Мышечную ткань смешивают с нагретым до кипения 60% КОН и подвергают щелочному гидролизу в течение 2 ч. Во время гидролиза достигается освобождение связанного с белками гликогена, так как белки гидролизуются, а гликоген остается неизмененным.

После окончания гидролиза перешедший в раствор гликоген осаждается спиртом, очищается от примесей путем промывки 66, 70, 80, 90, 96%-ным и абсолютным спиртом. Последний этап промывки — обработка осадка серным эфиром. Очищенный осадок гликогена растворяют в горячей воде и производится его гидролиз в присутствии HCl в течение 3 ч. После этого раствор охлаждают, нейтрализуют и количество образовавшейся в результате гидролиза глюкозы определяют по Хазелдорн-Иенсену.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ТРУДНОИЗВЛЕКАЕМОГО «СВЯЗАННОГО» ГЛИКОГЕНА

Известно, что гликоген способен образовывать комплексы с белками мышечной ткани. Образование таких комплексов в значительной мере должно изменять физико-химические свойства входящих в него компонентов. По этим причинам представляет интерес изучение содержания трудноизвлекаемого гликогена в мясе на различных этапах его созревания.

Определение производят по следующей методике. Навеску ткани в 4 г погружают в находящуюся в кипящей водяной бане пробирку с 20 мл горячей дистиллированной воды и экстрагируют «свободный» гликоген в течение 20 мин. Смесь центрифугируют, экстракт сливают, а остаток вновь подвергают экстракции горячей водой. Пятикратная экстракция обеспечивает полное извле-

чение свободного гликогена. Остаток в центрифужной пробирке подвергают щелочному гидролизу. Дальнейший анализ производят по методу определения общего количества гликогена. Содержание свободного гликогена вычисляют как разность между количествами общего и «связанного» гликогена.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ИЗМЕНЕНИЯ В БЕЛКОВОЙ СИСТЕМЕ МЯСА В ЦЕЛОМ

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ МЯСНОГО ЭКСТРАКТА ПРИ ПОМОЩИ ХРОМАТОГРАФИИ НА БУМАГЕ

Для определения свободных аминокислот мяса были проведены два метода хроматографии на бумаге.

Первый метод — хроматография на бумаге при проявлении пятен аминокислот изатином по Бояркину [5, 6, 7].

Хроматограмму малого размера (16×25 см) лопатообразной формы предварительно обрабатывают 0,067 М фосфатно-цитратным буфером, имеющим pH 4,0—6,0. Затем в точку, находящуюся в середине узкой полосы бумаги по месту ее присоединения к основному листу, наносят пятно испытуемого раствора и аминокислоты разделяют по методу восходящей хроматографии. Для этого на дно камеры высотой 15—20 см ставят узкую кювету с растворителем, в который опускают узкий конец (фитиль) хроматограммы. Сверху хроматограммы закрепляют между стеклами, закрывающими камеру. Растворитель, поднимаясь по фитилю и широкой части хроматограммы, переходит в выступающий наружу конец хроматограммы, где испаряется, создавая тем самым постоянный восходящий поток, необходимый для разделения.

Для хроматографирования аминокислот применяют в качестве растворителя верхний слой следующих смесей:

А — бутиловый спирт — ледяная уксусная кислота — 4,5 М фосфатно-цитратный буфер, имеющий pH 4,0. Соотношение указанных компонентов смеси 4:1:5.

Б — бутиловый спирт — ледяная уксусная кислота — 4,5 М фосфатно-цитратный буфер, имеющий pH 6,0 в отношениях 4:1:5.

В — бутиловый спирт — муравьиная кислота — 0,067 М фосфатно-цитратный буфер, имеющий pH 4,0 в отношениях 4:1:5.

По времени хроматографирования аминокислоты по этому методу разделяют на две группы: быстро- и медленнодвигающиеся; за границу этих двух групп принимают пролин и аланин. Для разделения медленнодвигающихся аминокислот требуется от 30 до 40 ч, а для быстродвигающихся — 7—10 ч. После просушивания хроматограммы пятна аминокислот проявляют иза-

тином. Основной недостаток метода — пригодность только для качественного определения аминокислот.

Однако изотипная реакция не только облегчает идентификацию аминокислот но и делает ее более достоверной, поскольку, кроме положения пятна, используют второй признак — пятна аминокислот, при этом принимают различную окраску от красной до синей с различными оттенками.

Учитывая особенности данного метода, целесообразно его рекомендовать в качестве вспомогательного и применять в отдельных случаях для идентификации, когда возникают сомнения в присутствии той или другой аминокислоты.

Второй из сравнивавшихся — метод количественного определения аминокислот при помощи хроматографии на бумаге — более удобный и дает достаточно хорошо воспроизводимые результаты. Метод основан на образовании медных производных аминокислот с нингидрином. Он был предложен Боде [56] и Гири [70] с последующими модификациями Зайцевой и Тюленевой [15], а также Пасхиной [28] и применен для исследования мяса [38].

Для анализа необходимо предварительно извлечь из мяса содержащиеся в нем свободные аминокислоты. Это производится по методу Авапары [42] этиловым спиртом. При этом 1 г мясного фарша тщательно растирают в ступке с 1,5—2,0 г стекла и переносят в центрифужную пробирку. Затем к смеси добавляют 10 мл 94%-ного этилового спирта и тщательно перемешивают стеклянной лопаточкой. Смесь центрифугируют в течение 15 мин при 2,5 тыс. об/мин. Спиртовой центрифугат сливают в фарфоровую чашку и в тот же центрифужный стакан добавляется еще 10 мл 94%-ного спирта. Смесь вновь перемешивают и центрифугируют еще 10 мин при 2,5 тыс. об/мин. Второй центрифугат сливают в ту же фарфоровую чашку и жидкость выпаривают досуха на водяной бане при 60° С. Затем в чашку добавляют 5 мл дистиллированной воды и сухой, слегка желтоватый остаток тщательно растворяется. Затем его переносят в пробирку, где обезжиривают испытуемый раствор эфиром. Для этого в пробирку с раствором аминокислот добавляют 3 мл эфира, закрывают ее пробкой и встряхивают в течение 5—10 мин. После расслаивания водно-эфирной смеси эфир удаляют пастеровской пипеткой с водоструйным насосом. Обработку эфиром повторяют 2—3 раза. Затем водный раствор аминокислот упаривают досуха на водяной бане при 60° С. К полученному сухому остатку добавляют 0,5 мл дистиллированной воды или изопропилового спирта. Для получения точных и хорошо воспроизводимых результатов мы пользовались хроматограммой особой формы, изображенной на рис. 77.

Ширина и длина перешейка могут быть изменены в зависимости от сорта бумаги. Для быстродвигающейся бумаги ширина

перешейка должна быть меньше, чем для медленнопьющих.

Раствор смеси свободных аминокислот в количестве 30 мкл нанесли в точки 1, 2, 3, 4, 5.

Для разделения аминокислот с близкими значениями коэффициента распределения R_f двукратно пропускают растворитель бутанол — ледяная уксусная кислота — вода в соотношении 40 : 10 : 50, а затем снова 2 раза пропускают тот же растворитель, но в соотношении 40 : 15 : 5 (это соотношение рекомендовано Рао и Вадхвани [125]).

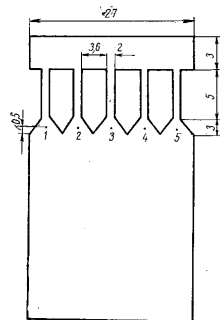


Рис. 77. Форма хроматограммы для разделения свободных аминокислот экстракта из сырого мяса:
1 — 5 — точки нанесения растворов аминокислот.

вследствие образования медного производного ДИДА (дикетогидриндилдиндикетогидриндамин).

Хроматограммы высушивают на воздухе при комнатной температуре.

Оранжево-красные пятна аминокислот вырезают, разрезают на мелкие кусочки и помещают в пробирки. Пятна всех аминокислот, за исключением аспарагиновой кислоты и аланина, вырезают с 3 хроматограмм. Пятна аспарагиновой кислоты и аланина вырезают с одной хроматограммы. Каждое пятно заливают 10 мл 75%-ного этилового спирта. Пробирки закрывают пробками, и содержимое их тщательно перемешивают для полной экстракции из бумаги окрашенного продукта.

Экстракция продолжается 1,5—2 ч в темноте при комнатной температуре.

Одновременно с пятнами аминокислот вырезают из бумаги контрольные участки, равные по площади опытным, которые обрабатывают таким же образом.

Интенсивность окраски экстрактов измеряют на спектрофотометре СФ-4 при длине волны 530 мкм в кюветках толщиной 1 см против контрольного экстракта из бумаги.

Расчет содержания свободных аминокислот мяса производят по коэффициенту R , составляемому для аминокислот — свидетелей по формуле

$$R = \frac{E}{CD},$$

где E — оптическая плотность соответствует показателям спектрофотометра и равняется логарифму отношения интенсивности света, входящего в кювету, к интенсивности света, выходящего из кюветы;

C — концентрация раствора, выраженная в мг;

D — толщина кюветы, см.

Изменение постоянства величины R при различных концентрациях аминокислот указывает на пределы концентрации, в которых возможно производить определение.

На основании известного для каждой аминокислоты коэффициента R рассчитывают концентрацию свободных аминокислот в спиртовой вытяжке из мяса по формуле

$$C = \frac{EP \cdot 100}{DRab},$$

где C — содержание аминокислоты в мг на 100 г мяса;

E — оптическая плотность;

P — разведение при элюировании;

a — количество мл, нанесенное на хроматограмму;

b — навеска мяса, г;

100 — пересчет на 100 г мяса.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕВАРИВАЕМОСТИ *in vitro* БЕЛКОВ МЯСА ФЕРМЕНТАМИ ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕПСИНА И ПАНКРЕАТИНА

Данный метод был предложен Смородиным и Жигаловым [34]. Его преимущество заключается в том, что получаемые результаты характеризуют интенсивность комплексного действия на белки мяса протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта.

Пропись метода следующая. Мясо очищали от видимых наслоений жира и соединительной ткани, измельчали в мясорубке и тщательно перемешивали. Брали навеску 20 г фарша и зали-

вали 200 мл 0,5%-ного или 1%-ного раствора пепсина в 0,5%-ной HCl. Производили переваривание белков мяса при температуре 37—38°С в течение 3 ч при pH около 1,6—1,9. Затем pH доводили до 8,2—8,4 сначала при помощи 1 н., а затем 0,1 н. раствором NaOH. Смесь подвергали действию 0,5—1,0% раствора панкреатина. Гидролиз с панкреатином протекает также при 37—38°С в течение 3 ч.

Затем пробу охлаждали льдом для прекращения процесса переваривания, отфильтровывали и гидролизат подвергали титрованию по Серенсену.

Примечание. Для раствора панкреатина готовят боратную смесь — 12,4 г борной кислоты растворяют в воде и объем доводят до 500 мл. Затем 20 мл этого раствора смешивают с 2 мл 1 N раствора едкого натра и проверяют pH.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ СОСТОЯНИЕ МИОФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ БЕЛКОВ ФРАКЦИИ МИОЗИНА

Широко распространен метод определения миозина, основанный на его экстрагировании из мышечной кашицы по Веберу.

Сущность этого метода заключается в том, что исследуемая мышечная ткань многократно экстрагируется при pH 9,1 раствором, содержащим 0,6 M KCl, 0,01 M Na_2CO_3 и 0,04 M NaHCO_3 . Продолжительность каждой экстракции 30 мин (в последний раз экстракция производится при pH 9,8). Затем раствор диализируется и выпавший осадок миозина отделяется.

Как установили Губа и Штрауб [74], в зависимости от pH экстрагирующего солевого раствора сильно изменяется количество миозина, переходящего в вытяжку.

Нижеприведенные данные о зависимости растворимости миозина от pH экстрагирующей жидкости иллюстрируют это положение (Губа и Штрауба [74]).

pH	мг миозина в 1 мл
5,9	4,3
6,3	10,5
6,5	12,0
7,0	12,7
7,5	10,3

Следовательно, определение количества извлекаемого миозина, основанное на его экстракции по Веберу, дает искаженные, не соответствующие действительности результаты. И если хотя бы установить истинную растворимость белков фракции актомиозина на той или иной стадии процесса созревания мяса, то

следует производить экстракцию при тех условиях реакции среды, какие имеются в данный момент в мясе.

Губа и Штрауб [74] изучали влияние степени измельчения мяса и продолжительности экстракции на образование при этом актомиозинового комплекса. О влиянии степени измельчения мяса и продолжительности экстракции на количество актомиозина, переходящего в раствор, и его активность дает представление табл. 66.

Таблица 66

Продолжительность экстракции, мин	Грубое измельчение		Тонкое измельчение	
	% активности	мг актомиозина в 1 мл	% активности	мг актомиозина в 1 мл
5	4,5	12,0	7,0	15,6
10	4,8	13,8	9,0	16,5
15	5,0	15,5	13,0	17,2
20	6,6	17,7	20,0	18,0
25	9,0	20,2	22,0	19,0
60	—	—	40,0	—
120	—	—	80,0	—

Табл. 66 показывает рост активности экстрагированного актомиозина при продолжительной экстракции. Увеличение степени измельчения приводит к тому, что активность экстрагированного актомиозина при тонком измельчении резко увеличивается.

Следовательно, при установлении на различных этапах процесса созревания растворимости актомиозина необходимо избегать длительной экстракции и применения тонкого измельчения, так как при этом актин освобождается из мышечной структуры и может замаскировать наблюдаемые нами изменения. Этот вывод впоследствии был фактически подтвержден данными Головкина и Першиной [12]. Ими было установлено, что экстрагирование белков фракции миозина из мышц рыб после двух суток их хранения при —0,5°С методом длительной экстракции в некоторой степени маскирует происходящий при этом переход актомиозина в нерастворимое состояние, так как отчасти нивелирует наблюдаемые различия в его растворимости.

С учетом этого мы остановились на модифицированном нами методе Баленовича [47], описание которого приводим ниже.

Парное или хранившееся на холоде мясо пропускают через охлажденную мясорубку, и фарш собирают в фарфоровую чашку, находящуюся на льду. Навеску измельченного мяса (8,33 г) смешивают с 25 мл 0,6 M охлажденного раствора KCl в центрифужной пробирке, которая погружена в ледяную воду. В течение 10 мин производится экстракция при помешивании (более продолжительная экстракция увеличивает переход белковых ве-

ществ в экстракт за счет увеличения активности актомиозина). После этого жидкую фазу отделяют центрифугированием и сливают с осадка через фильтровальную бумагу в мерную колбу на 50 мл. К остатку в центрифужной пробирке вновь добавляют 25 мл охлажденного раствора 0,6 М KCl, смесь быстро размешивают и вновь центрифугируют. Экстракт сливают в ту же мерную колбу. Когда достигнута комнатная температура, объем жидкости в колбе доводят до метки 0,6 М раствором KCl и ее содержимое перемешивают.

10 мл полученного таким путем экстракта помещают в центрифужный стакан емкостью 200 мл, прибавляют 10 мл 0,5 М ацетатного буфера, имеющего pH 5,2 и 80 мл дистиллированной воды (разбавление в 10 раз). Через некоторое время выпавший осадок центрифугируют, дважды промывают водой, количественно переносят на предварительно высушенный и взвешенный фильтр, после чего высушивают и взвешивают. Вместо определения количества белков фракции миозина весовым методом в полученном таким путем осадке может быть определено содержание общего азота по Кьельдалю. Однако было установлено [12], что в последнем случае имеет место несколько большая погрешность, хотя средние данные для обеих методик совпадают. Точность метода лежит в пределах $\pm 4,0\%$.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА БЕЛКОВ, ЭКСТРАГИРУЕМЫХ СОЛЕВЫМ РАСТВОРОМ

В процессе созревания мяса динамика растворимости белков фракции миозина может быть прослежена по изменению азота белков, экстрагируемых солевым раствором. Это объясняется тем, что, как нами было показано в предыдущих главах, белки миогеновой фракции и миоальбумина не подвергаются при созревании мяса существенным изменениям. Следовательно, наблюдаемые в данном случае изменения растворимости в основном относятся за счет белков фракций миозина и глобулина-х.

Учитывая, что в мышечной ткани миозина содержится вдвое больше, чем глобулина-х, и, кроме того, в процессе последующего окоченения растворимость первого из них снижается в значительно большей степени, чем последнего, азот белков, экстрагируемых солевым раствором, может служить косвенным показателем растворимости белков фракции миозина.

Этот показатель имеет также самостоятельное значение, поскольку он отражает суммарные изменения в состоянии белковых фракций, растворимость которых неодинакова на различных стадиях хранения мяса (белки фракций миозина и глобулина-х).

Методика определения. Фарш (10 г) помещают в центрифужный стакан на 200 мл, заливают 100 мл охлажденного

0,6 М раствора NaCl и настаивают при периодическом перемешивании в течение 10 мин. Затем смесь центрифугируют и центрифугат сливают через вату в мерную колбу на 500 мл. Остаток обрабатывают еще 3 раза по 100 мл 0,6 М NaCl, перемешивая, настаивая и центрифугируя. Затем сливают центрифугат в ту же мерную колбу. Вату промывают 0,6 М NaCl. Содержимое колбы доводят до метки, 15 мл экстракта берут в стакан и к нему добавляют 15 мл 20%-ной трихлоруксусной кислоты.

Через 30—40 мин осадок отфильтровывают и промывают 3—4 раза 10%-ной трихлоруксусной кислотой. Осадок минерализуют по Кьельдалю и определяют в нем азот по Конвею.

Для экстрагирования может быть применен 0,6 М раствор KCl. Однако в целях унификации методов исследования и получения сопоставимых результатов анализа свежего и соленого мяса целесообразно во всех случаях пользоваться 0,6 М раствором NaCl.

В ряде случаев для краткости мы называем результаты, получаемые по данному методу, «количеством соластворимых белков». При этом имея в виду, что водорастворимые белки фракции миогена и миоальбумина являются частью белков, экстрагируемых солевым раствором, хотя и не оказывают существенного влияния на величину данного показателя, так как их растворимость при созревании мяса практически не изменяется. Точность определения по данному методу $\pm 4,0\%$.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АКТОМИОЗИНА ПО БАЛЕНОВИЧУ И ШТРАУБУ [47]

Активностью актомиозина называется содержание в нем актина. Если актомиозин растворить в 0,6 М KCl при pH 7 и добавить к раствору 0,035% АТФ, то он диссоциирует на составные компоненты. Тогда величина вязкости раствора будет равняться сумме величин вязкости соответствующих по концентрации растворов миозина и актина. Разница в величине вязкости до и после добавления АТФ будет характеризовать активность испытуемого актомиозина.

Белки фракции актомиозина из мышечной ткани экстрагируют по вышеописанному методу. В отдельной порции экстракта определяют содержание в нем актомиозина весовым методом. Для осаждения испытуемого актомиозина берут такое количество экстракта, чтобы можно было в дальнейшем получить 15 мл раствора, содержащего около 1 мг актомиозина в 1 мл. Осаждают также по указанному методу. Затем к испытуемому осадку добавляют 0,6 М раствор KCl, имеющий pH 7,0 (для этого мы употребляли боратный буфер). К 4 мл испытуемого раствора добавляют 2 мл 0,6 М KCl и смесь помещают в модифицированный вискозиметр Оствальда (диаметр капилляра

0,060 см, длина капилляра 210 мм, диаметр цилиндрического резервуара 1,65 см, количество вытекающей жидкости 1,2—1,7 мл/мин) и определяют вязкость при 0° С.

После этого к другой 4 миллилитровой порции испытуемого раствора добавляют раствор, содержащий 2 мл раствора АТФ (рН 7,0), и вновь определяют вязкость.

Относительная вязкость выражается отношением времени истечения белкового солевого раствора к времени истечения раствора соли той же концентрации.

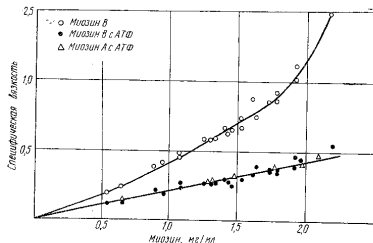


Рис. 78. Падение вязкости растворов миозина А и миозина В после добавления к ним АТФ в зависимости от концентрации указанных белков в растворе (Баленович и Штрауб).

Для определения процента активности находим на кривой, представленной на рис. 78, какое падение специфической вязкости в присутствии АТФ дает раствор миозина В, одинаковый по концентрации с испытуемым раствором актомиозина.

Разность вязкости испытуемого раствора до и после прибавления АТФ, умноженная на 100 и деленная на разность вязкости соответствующего по концентрации миозина В, показывает процент активности испытуемого актомиозина.

Однако при изучении динамики данного показателя в процессе созревания мяса вычисление процентного содержания актина в актомиозине может и не производиться, так как величина падения вязкости растворов актомиозина после добавления к ним АТФ может служить достаточным критерием степени ассоциации миозина с актином.

Головинки и Першина [12] установили, что погрешность данного метода очень незначительна и находится в пределах 1—2%, при двух-трех параллельных определениях.

Аденозинтрифосфорную кислоту обычно определяют по легкогидролизуемому фосфору фракции фосфорсодержащих соединений экстракта, полученного после осаждения растворимых белков трихлоруксусной кислотой.

Сущность метода заключается в том, что из трех остатков фосфорной кислоты, входящих в состав молекулы АТФ, два легко отщепляются при гидролизе в 1 н. растворе HCl при 100° С.

По разности между содержанием фосфора до и после гидролиза судят о содержании легкогидролизуемого фосфора, входящего в состав АТФ.

Старые методы основывались на осаждении АТФ вместе с неорганическим фосфором в виде кальциевых или бариевых солей.

Как показал Керр [88], при добавлении щелочного раствора хлористого кальция осаждается только 60—75% АТФ, в то время как при осаждении ацетатом ртути достигается почти полное ее осаждение.

Вместе с тем ацетат ртути практически не осаждает неорганический фосфор, содержащийся в трихлоруксусном экстракте испытуемой ткани.

Поэтому мы остановились на определении легкогидролизуемого фосфора АТФ по методу ее осаждения уксуснокислой ртутью, описанному Саковым [30], с незначительными изменениями, внесенными применительно к изучаемому объекту.

Мышечную ткань по возможности быстро пропускают через охлажденную мясорубку и фарш собирают в чашечку, находящуюся на льду.

Отвешивают 10 г фарша и переносят в центрифужную пробирку емкостью 40—50 мл, прибавляют 20 мл охлажденной на льду 10%-ной трихлоруксусной кислоты и экстрагируют при помешивании в течение 15 мин на холоде.

Выпавшие в осадок белковые вещества отделяют центрифугированием, сливают фильтрат с осадка в другую центрифужную пробирку и прибавляют 3,5 мл 25%-ного раствора уксуснокислой ртути в 2%-ной уксусной кислоте. После получасового стояния на холоде (когда осадок начнет отделяться от жидкости) смесь центрифугируют, жидкость удаляют декантацией и осадок, находящийся в центрифужной пробирке, дважды промывают 96%-ным спиртом (под спиртом осадок может сохраняться до следующего дня).

После удаления спирта осадок растворяют в 2—4 мл 0,5 н. раствора HCl, переносят количественно в мерную колбу на

25 мл (для парного мяса в мерную колбу на 100 мл), нейтрализуют и доводят водой до метки.

В отдельных порциях полученного таким образом исходного для колориметрирования раствора находят прямоопределяемый и легкогидролизуемый фосфор по Фиске и Суббарову (вместо эйконогена можно принять α -нитрово- β -нафтол) [27]. Прямоопределяемый фосфор находят сразу же после приготовления исходного раствора.

Для определения легкогидролизуемого фосфора в мерной колбе на 25 мл к 5 мл исходного раствора прибавляют 5 мл 2 н. раствора HCl и ставят в кипящую водяную баню на 10 мин. По истечении указанного срока жидкость быстро охлаждают, нейтрализуют и определяют фосфор по Фиске и Суббарову. Последний метод общепринят и основан на определении интенсивности окраски молибденовой сини, образующейся при восстановлении фосфорно-молибденовой кислоты эйконогеном. Может возникнуть сомнение в том, что в условиях выполнявшихся нами опытов осаждаемый ртутными солями фосфор, который впоследствии определяется как легкогидролизуемый, действительно принадлежит АТФ.

Поэтому мы произвели анализ ртутного осадка, полученного при действии уксуснокислой ртути на трихлоруксусные экстракты парного мяса и установили, что в среднем 93,48% содержащегося в ртутном осадке легкогидролизуемого фосфора принадлежит АТФ и только около 6,5% может быть отнесено за счет АДФ.

Следовательно, определение легкогидролизуемого фосфора АТФ методом осаждения ртутными солями в основном правильно отражает распад этого соединения при созревании мяса.

Головкин и Першина [12] отмечают, что неточность определения иногда возникает на том этапе, когда проводится инкубация опытных проб при 37°C с целью восстановления фосфорно-молибденовой кислоты эйконогеном. При этом окрашенные пробы, особенно негидролизированные, слегка мутнеют, что и приводит при колориметрировании к неправильным результатам. Они рекомендуют в таких случаях взвешенные частицы отделять центрифугированием. В нашей работе таких случаев не наблюдалось.

Эти же авторы сравнивали метод ртутного осаждения с адсорбцией углем аденозинполифосфатов и пришли к заключению, что первым из указанных методов в основном выделяется АТФ, а АДФ в осадке содержится только в виде примесей. При адсорбции углем определяется сумма АТФ и АДФ.

Таким образом, первая из указанных методик имеет преимущества перед второй и довольно правильно отражает количественное содержание АТФ в мышце. Погрешность при тщатель-

ном и правильном выполнении всех операций анализа колеблется в пределах от 1 до 6%. Только при анализе мышечной ткани после длительного хранения она повышается до 10—12% [12].

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ N-КОНЦЕВЫХ ГРУПП В БЕЛКАХ ФРАКЦИИ МИОЗИНА

Этот метод служит для получения прямых доказательств протеолиза миофибриллярных белков мяса при созревании и для установления природы продуктов, образующихся в процессе размягчения мяса при помощи препаратов протеолитических ферментов.

Применив метод определения содержания N-концевых групп, Локшина и Орехович [22] изучали течение процесса ферментативного гидролиза таких белков, как яичный и сывороточный альбумин, проколлаген и стурин пепсин, трипсин и химотрипсин. Авторы пришли к выводу, что при увеличении продолжительности процесса протеолиза в белковом субстрате появляются новые свободные N-концевые группы различных аминокислот. Следовательно, метод определения N-концевых групп можно с успехом применять для изучения процесса протеолиза в тех случаях, когда обычные методы (определение различных форм азота) по тем или другим причинам не могут дать ответа на поставленные вопросы.

Бейли [43] расширил область применения этого метода, используя его для изучения строения миозина, тропомиозина и фибриногена.

При изучении выделенных из миозина растворимых в эфире ДНФ производных аминокислот Бейли пришел к заключению, что этот белок в нативном состоянии практически не имеет свободных N-концевых групп аминокислот, входящих в данную фракцию. Следовательно, нативный миозин так же, как и тропомиозин, построен из циклических пептидных цепей.

Бейли применил метод определения N-концевых групп также для изучения стабильности пептидных связей указанных белков в кислой и щелочной средах. При этом автором было установлено, что хранение раствора миозина при pH 13 приводит к расщеплению пептидных связей, которое распознается по образованию в миозине свободных N-концевых групп треонина, серина и дикарбоновых кислот. Позже Саад и Коминг [127] установили, что глутаминовая кислота, серин и аланин образуют N-концевые группы денатурированного тропомиозина, причем первая из них содержится в наибольших количествах.

Эти данные указывают на неустойчивость циклического строения пептидных цепей в миозине. Такое строение может быть нарушено при воздействии тех или иных факторов.

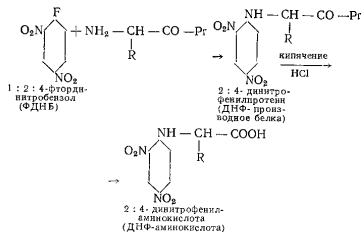
Поскольку основной структурный белок, обуславливающий консистенцию мышечной ткани — миозин, мы решили проверить, не происходит ли в процессе созревания при воздействии протеиназ мяса расщепление циклических пептидных цепей белков фракции миозина с образованием свободных N-концевых групп аминокислот [38г]. Поскольку дериваты большинства аминокислот (за исключением трех) экстрагируются эфиром, ограничилось исследованием только эфирной фракции.

Для определения содержания N-концевых групп в белках фракции миозина был использован метод Сангера [130, 131, 132] в модификации Троицкой [39].

Локкером [102] была предпринята аналогичная попытка, которая не привела к положительным результатам. Поэтому мы внесли в применявшуюся Локкером методику ряд уточнений [155].

Концевые остатки белков отличаются от других групп в пептидной цепи тем, что они содержат свободные H_2 и $COOH$ группы, и этот факт используется для их количественного определения.

Динитрофениловый метод основан на следующих реакциях:



Исследуемый белок обрабатывают спиртовым раствором динитрофторбензола при слабощелочной реакции; причем этим реагентом связывают только имеющиеся в белковой молекуле свободные аминогруппы, а аминогруппы, находящиеся в белке в виде пептидов, остаются незатронутыми.

Выпадающий при этом в осадок динитрофенилпротеин подвергают солянокислотному гидролизу. Во время гидролиза динитрофенилированного белка N-концевые остатки освобождаются в виде ДНФ-производных аминокислот, окрашенных в желтый цвет. При этом в гидролизате наряду с ДНФ-аминокислотами

образуются свободные аминокислоты. ДНФ-производные аминокислот затем экстрагируются эфиром, их большинство переходит при этом в эфирную вытяжку, а часть (аргинин, е-лизин и гистидин) остается в кислотной-водной вытяжке и в свою очередь экстрагируется бутанолом. Эфирный и водный экстракты фракционируются каждый в отдельности путем раздельной 2-мерной хроматографии на бумаге. Водная фракция нами не исследовалась. После элюирования полученных при хроматографии эфирной фракции пятен может быть определена оптическая плотность растворов для установления количественного содержания той или другой концевой аминокислоты в испытуемом белке.

Выделяли белки фракции миозина из мяса по модифицированному методу Любимовой [24].

Из работы Любимовой [24] известно, что при выделении миозина экстракцией солевыми растворами с последующим осаждением белка десятикратным разведением водой, кроме миозина и актомиозина, также осаждаются креатинфосфофераза, миокиназа и дезаминаза адениловой кислоты. Причем дезаминаза АК относительно прочно связана с белком, а другие ферменты без особого труда отмываются от мышечной кашицы водой и в очищенных таким путем препаратах миозина их найти невозможно.

При разработке методики мы также руководствовались данными Сент-Дьердьи [31] о том, что при кратковременной (10-минутной) экстракции из мышечной ткани извлекаются миозин, а при длительной — актомиозин. Следовательно, для того чтобы избежать в ходе определения при воздействии солевых растворов образования актомиозинового комплекса (что будет маскировать истинное состояние белков в мясе), необходимо производить кратковременную экстракцию миозина.

При этих условиях препараты белка будут содержать лишь незначительные количества актомиозина, образованного в ходе определения.

Исходя из указанных условий, в методику выделения миозина нами были внесены соответствующие изменения. От полученного на холоде фарша отбирают навеску в 250 г, помещают в измельчитель и заливают 500 мл охлажденного 0,6 М раствора NaCl.

После 2—3 мин измельчения смесь помещают в центрифужные стаканы и настаивают при охлаждении в течение 10 мин с перемешиванием. Затем жидкость отделяют от осадка на рефрижераторной центрифуге в течение 10—15 мин при 3000 об/мин. Жидкость сливают декантацией через вату в мерный стакан, помещенный в лед. Осадок в центрифужных стаканах еще раз обрабатывают 0,6 М раствором NaCl без настаивания при соотношении 1:2 к первоначальному весу мяса с перемешиванием

стеклянной лопаточкой и центрифугированием. После центрифугирования жидкость вновь сливают через воронку с ватой и присоединяют к первоначальному экстракту. Количество полученного таким путем экстракта замеряют, разбавляют в 4—5 раз охлажденной дистиллированной водой, затем добавляют 1 объем ацетатного буфера, имеющего рН 5,2 (равный замеренному объему экстракта), и разбавляют в 10—20 раз (по отношению к замеренному количеству экстракта) охлажденной дистиллированной водой.

При отстое на холоде в течение 2—4 ч выпавший осадок белков фракции миозина оседает. В случае плохого осаждения и получения мутного раствора над осадком, указывающего на неполноту осаждения, необходимо проверить рН раствора и довести его до нужной величины (5,2) очень осторожным добавлением разбавленной уксусной кислоты или слабого раствора NaOH, можно также дополнительно разбавить водой в 1,5—2 раза.

Жидкость над осадком по возможности сливают сифоном, а остаток центрифугируют с охлаждением и 4-кратной промывкой небольшим количеством охлажденной дистиллированной воды. Затем растворяют миозин в 300—400 мл 0,6 М раствора NaCl с подщелачиванием 0,1—0,5 н. NaOH до рН 8—9. Нерастворившуюся часть белка отделяют центрифугированием, раствор белков фракции миозина фильтруют через вату. Объем замеряют и белок вновь осаждают путем 10—20-кратного разведения охлажденной водой в присутствии ацетатного буфера. Для достижения полноты осаждения смесь помещают на ночь в холодильник. На другой день жидкость над осадком сливается сифоном, а осадок белков фракции миозина отделяют центрифугированием и растворяют в 80—100 мл охлажденного раствора Вебера, имеющего рН 9,1. При этом проверяется рН и доводится до 9,0 слабым раствором NaOH. После 10—15 мин растворения полученный раствор центрифугируют и фильтруют через вату.

Для получения ДНФ-производных белков фракции миозина к 150—180 г раствора белков фракции миозина (взятого по весу) добавляют двойной объем спиртового раствора динитрофторбензола (0,2 г ДНФБ растворяют в указанном количестве спирта) и смесь взбалтывают на холоде стеклянной мешалкой в течение 2 ч, поддерживая рН 8 периодическим добавлением 0,1 н. NaOH.

Затем раствор подкисляют 0,1 н. HCl до рН 6—6,5 и охлаждают 1 ч в холодильнике. Окрашенный в желтый цвет осадок ДНФ-производных белков фракции миозина отделяют на рефрижераторной центрифуге, промывают для удаления свободного динитрофенола три раза с центрифугированием небольшими порциями охлажденного спирта, имеющего рН 6,5—7,0. Осадок

осторожно стеклянной лопаточкой переносят на взвешенный и высушенный стеклянный фильтр 1-г-2 и перемешивают на фильтре со свободным от перекисей безводным эфиром. Оставшийся в центрифужном стакане осадок переносят на фильтр небольшим количеством спирта, добавляя при этом прямо на фильтр эфир и перемешивая осадок стеклянной палочкой.

Колбу, в которую вставлен стеклянный фильтр, присоединяют к водоструйному насосу. Осадок на фильтре промывают несколько раз эфиром с перемешиванием стеклянной палочкой, пока промывная жидкость не станет бесцветной.

Оставшийся на стеклянной палочке незначительный осадок снимают скальпелем и присоединяют к осадку на фильтре.

Осадок на фильтре высушивают в эксикаторе над CaCl_2 до постоянного веса.

При динитрофенилировании и гидролизе белка образуются окрашенные в желтый цвет побочные продукты — динитрофенол и динитроанилин, которые переходят при экстракции в эфирную фракцию. Динитроанилин на односторонней хроматограмме располагается близ линии фронта растворителя и не мешает определению. Динитрофенол располагается в центре хроматограммы и может накладываться на пятна ДНФ-аминокислот. С целью очистки от динитрофенола, мы применяли метод сублимации (возгонки под вакуумом) в специальном приборе, предложенном Милльсом [109].

Для проведения гидролиза, на аналитических весах взвешивают около 1,0 г ДНФ-производного миозина и навеску помещают в гидролизную пробирку. Туда же добавляют 25—35 мл 6 н. соляной кислоты. Осадок тщательно растирают с кислотой стеклянной лопаточкой, лопаточку обмывают небольшим количеством 6н. соляной кислоты. К пробирке присоединяют припаянный лабораторный стеклянный воздушный холодильник и ставят на кипящую баню (глицерин + вода в соотношении 1:3) для гидролиза при 105° С в течение 8 ч.

Содержимое пробирок во время гидролиза периодически перемешивают взбалтыванием, а при наличии больших комочков растирают стеклянной лопаточкой, обмывая ее каждый раз небольшим количеством 6 н. соляной кислоты.

После окончания гидролиза лабораторные воздушные холодильники промывают небольшим количеством дистиллированной воды. Гидролизат количественно переносят через фильтровальную бумагу в высокую экстракционную пробирку с притертой пробкой емкостью 160—180 мл (при разбавлении водой в 2 раза по отношению к первоначальному объему).

К профильтрованному и разбавленному гидролизату добавляют 30—40 мл очищенного от перекисей и обезвоженного серного эфира.

Пробирку закрывают притертой стеклянной пробкой, энергично встряхивают, ее содержимое отстаивается и эфирный слой отсасывается водоструйным насосом в круглодонную колбу.

Экстракцию эфиром повторяют 4—5 раз, собирая эфирную фракцию в ту же колбу. После каждой экстракции эфир из круглодонной колбы частично отгоняют на водяной бане при температуре не выше 50° С до объема в 10—15 мл. Затем эфирный экстракт переносят в маленькую делительную воронку, колбу ополаскивают несколько раз небольшими порциями эфира и эфирный экстракт промывают 3 раза небольшими порциями (по 3 мл) 1 н. соляной кислоты, стараясь сливать каждый раз водную фазу полностью без потерь эфирного слоя. Для очистки ДНФ-производных аминокислот от примеси динитрофенола эфирный экстракт из делительной воронки переносят в колбу прибора для сублимации. Там ДНФ-аминокислоты путем отгонки эфира на водяной бане, имеющей температуру не выше 50° С, распределяют тонким равномерным слоем по стенкам колбы. После этого к колбе присоединяют насадку с притертым шлифом и пробиркой, доходящей почти до дна колбы, для охлаждающей смеси (смесь этилового спирта с сухим льдом). Прибор присоединяют к масляному насосу, и динитрофенол сублимируется в течение 3 мин на водяной бане при 70° С. После этого осадок растворяется в 5—10 мл эфира и распределяется тонким слоем по стенкам колбы путем испарения эфира и снова подвергается сублимации в течение 3 мин.

После окончания сублимации осадок ДНФ-производных аминокислот с помощью эфира смывают со стенок на дно колбы, эфир испаряется на водяной бане, а осадок растворяют в небольшом количестве ацетона и количественно переносят пипеткой на хроматографическую бумагу.

ДНФ-производные аминокислот окрашены в желтый цвет и не требуют дополнительного проявления на хроматограммах. Весь ацетоновый раствор ДНФ-производных аминокислот переносят на листы медленно впитывающей бумаги для хроматографии (28 × 60 см) медицинской (или тонкой пастеровской) пипеткой на 0,1—0,2 мл. На каждый лист наносят пятно от одной пробы. После нанесения пятна ДНФ-производные аминокислот переводят в аммиачные соли протягиванием листов бумаги (по месту нанесения на них пятен) в парах аммиака. Затем производят хроматографическое разделение ДНФ-производных методом нисходящей двухмерной хроматографии.

В качестве первого растворителя берется бутанол, насыщенный 0,1%-ным водным аммиаком. Нижняя (водная) фаза растворителя служит для насыщения хроматографической камеры, а верхнюю фазу растворителя заливают в лодочку.

Подготовленные вышеуказанным способом листы бумаги помещают для насыщения на $1/2$ ч в камеру, на дне которой

установлены сосуды с водной фазой, затем в лодочку заливают 60—80 мл верхней фазы растворителя.

Разделение протекает в зависимости от температуры окружающего воздуха от 14 до 36 ч в затемненной камере, затем хроматограммы высушивают при 40° С до удаления растворителя. После этого от листа отрезают часть хроматограммы с пятном ДНФ-дикарбоновых аминокислот, а остальную хроматограмму помещают в другую камеру. В лодочку заливают 0,72М фосфатный буфер, имеющий рН 6,0. На дне камеры помещен поддон с водой. Разделение во втором направлении продолжается 2—4 ч, затем хроматограмму высушивают при 40° С в течение 30 мин и визуально оценивают пятна ДНФ-аминокислот в ультрафиолетовом свете.

Идентификация выделенных ДНФ-аминокислот нами проводилась: а) регенерацией в присутствии аммиака с последующим хроматографическим разделением образовавшихся свободных аминокислот по их свидетелям (по описанному выше методу Боде и Гири), б) установлением места расположения пятна ДНФ-производного данной аминокислоты на двухмерной хроматограмме (по описанному выше методу) в присутствии свидетеля и в) установлением величины R_f .

Для регенерации ДНФ-производных аминокислот эфирную фракцию, полученную при экстракции этих кислот из смеси после гидролиза соляной кислотой, трехкратно промывали небольшими порциями воды. Затем эфир удаляли, а сухой остаток подвергали гидролизу 25%-ным аммиаком в запаянных ампулах или в пробирках с лабораторным обратным холодильником при температуре 105° С в течение 6 ч.

После гидролиза аммиак удаляли выпариванием досуха. Сухой остаток растворяли в 2 н. HCl. Продукты распада ДНФ-производных удаляли экстракцией эфиром, а аминокислоты исследовали хроматографически нингидриновым методом.

Препараты ДНФ-производных свободных аминокислот необходимы в качестве свидетелей для идентификации отдельных пятен на хроматограммах, а также для построения калибровочных кривых при количественном определении.

Основные положения методов получения ДНФ-производных аминокислот даны в работах Абдегальдена, а также Сангера [130, 131, 132], Браунитцера [57], Милльса [109].

0,2 г тонкоизмельченной аминокислоты смешивают с 0,4 г NaHCO_3 и 5—10 мл воды, нагревают при 40° С в течение 10 мин в колбе, имеющей пришлифованный воздушный холодильник, на водяной бане до растворения.

После этого к раствору добавляют 0,2 г ФДНБ, растворенного в двойном (по отношению к пробе) объеме этилового спирта. Колбу обертывают черной бумагой и пористой резиной и устанавливают в шюттель-аппарат. Смесь встряхивают в течение

2 ч (если применяют глютаминовую и аспарагиновую кислоты, реакция с ФДНБ проходит медленно, встряхивать необходимо 4—5 ч). Выпавший желтый осадок оставляют в холодильнике на ночь.

На другой день колбу с содержимым нагревают на водяной бане, при этом осадок растворяется. Если часть осадка остается, то его отфильтровывают в горячем состоянии. Фильтр и колбу промывают спиртом, а осадок удаляют.

Фильтрат переносят в фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане досуха для удаления спирта. Когда полученная масса охладится, ее заливают холодной водой и оставляют раствориться без перемешивания.

Затем раствор фильтруют через складчатый фильтр и фильтрат экстрагируется эфиром для удаления избытка ФДНБ. После этого добавляют NaOH и производят вторичную экстракцию эфиром для удаления динитроанилина (ДНА).

К отдельной пробе фильтрата добавляют разбавленную 1 н. HCl до выпадения фракции маслянистой консистенции.

В основную массу нагретого фильтрата вносят небольшой избыток HCl и оставляют на ночь для образования маслянистого осадка.

Раствор над осадком отсасывают вакуум-насосом через стеклянный фильтр № 4 и осадок промывают холодной водой (вода добавляется в очень малых количествах во избежание его растворения).

Осадок на фильтре растворяют в эфире и переносят в колбу прибора для сублимации, в которой очищают ДНФ-производные аминокислоты от примесей динитрофенола.

Эфир выпаривают, а осадок распределяют тонким слоем по стенкам колбы. Сублимируют динитрофенол под вакуумом на водяной бане при 70° С в течение 3 мин.

После окончания первой сублимации проводят повторное растворение осадка в эфире и повторную сублимацию при тех же условиях.

Очищенный сублимацией препарат ДНФ-аминокислоты в теплом состоянии растворяют в небольшом количестве (1—2 мл) ледяной уксусной кислоты. Уксуснокислый раствор при умеренном нагревании разбавляют водой до начала помутнения. Затем появившуюся муть слабым нагреванием растворяют и прозрачный раствор оставляют стоять 1—4 дня на холоде для кристаллизации.

Выделившиеся кристаллы отсасывают через стеклянный фильтр, промывают уксусной кислотой и водой (или отпрессовывают на глине и высушивают под вакуумом в парах кипящего ацетона или толуола) и проводят перекристаллизацию из соответствующих растворителей.

При изготовлении препаратов ДНФ-производных дикарбоновых кислот вместо уксусной кислоты осадок растворяют в небольшом количестве метилового спирта и добавляют воду до выпадения осадка (спирт—вода 1 : 10). Через 2—3 дня кристаллизации в холодильнике осадок отсасывают с применением вакуума и промывают водой.

В случае приготовления препарата лейцина, после выделения кристаллов из уксусной кислоты пересаживание проводят из смеси спирта с водой (спирта немного, воды в несколько раз больше). Кристаллизация длится несколько дней в холодильнике. Кристаллы отсасывают масляным насосом и промывают ледяной водой. Полученные ДНФ-производные аминокислот высушивают в эксикаторе над CaCl_2 до постоянного веса. Чистоту препаратов проверяют, устанавливая их температуру плавления и гомогенность при хроматографировании. Кроме того, определяют местоположение их пятен на хроматограммах и величину R_f .

Таким методом нами были приготовлены препараты ДНФ-производных аспарагиновой и глютаминовой кислот, аланина, лейцина, серина. ДНФ-производные серина и глютаминовой кислоты получены для качественных определений — идентификации этих производных по R_f их пятен.

Изготовленные препараты ДНФ-производных аминокислот имели следующую температуру плавления: аспарагиновая кислота — 186° С (180—187°), аланин — 178° С (178°, 178°), лейцин — 130° С (94—95°). В скобках дается температура плавления указанных препаратов по литературным данным.

При получении ДНФ-производного лейцина по вышеописанной методике лейцин и изолейцин не разделяются; они находятся в смеси, чем и объясняется расхождение.

Все ДНФ-производные аминокислот (за исключением ДНФ-производных пролина и оксипролина) дают характерный максимум поглощения в ультрафиолетовой части спектра при длине волны 360 мкм. ДНФ-пролин и ДНФ-оксипролин — при 385 мкм. Поэтому определяют оптическую плотность испытуемых спиртовых растворов ДНФ-производных аминокислот при 360 мкм.

Предварительно готовят растворы полученных препаратов индивидуальных ДНФ-производных (свидетелей) различных аминокислот и для каждого ДНФ-производного строят калибровочную кривую зависимости оптической плотности от концентрации.

На основании полученных показаний величины оптической плотности при какой-либо известной концентрации ДНФ-производного данной аминокислоты вычисляют, как описано выше, величину коэффициента R .

Для количественной оценки разделенных хроматографическим путем ДНФ-производных аминокислот, составляющих

N-концевые группы испытуемых белков фракции миозина, пятна на бумаге очерчивают в УФ-свете, вырезают и измельчают ножницами.

Затем вещество элюируют из бумаги 1%-ным раствором NaHCO_3 при 60° С на водяной бане в течение 20 мин и раствор охлаждают до комнатной температуры. В зависимости от интенсивности окраски пятен берут от 4 до 15 мл элюирующего раствора.

Контрольным раствором при измерении служит элюат со свободного от пятен участка хроматограммы (приблизительно равного по площади среднему размеру пятна).

Оптическая плотность полученных таким путем растворов замеряется на спектрофотометре и количество ммоль аминокислоты на 1 моль миозина рассчитывают по формуле

$$D = \frac{E_0 \cdot 1000 \cdot MB_1 \cdot a}{RCMB_2 \cdot 1000000},$$

где D — количество ммоль аминокислоты на 1 моль миозина;
 E — оптическая плотность;
 v — объем элюата, мл;
 1000 — пересчет на ммоль данной ДНФ-аминокислоты;
 MB_1 — расчет на 1 моль миозина ($MB_1 = 850000$);
 a — пересчет на ммоль данной аминокислоты;
 R — постоянный коэффициент для данной ДНФ-аминокислоты;
 C — навеска желтого осадка, г;
 MB_2 — молекулярный вес ДНФ-производного данной аминокислоты;
 1000000 — пересчет количества ДНФ-производного аминокислоты, выраженного в мкг, на грамм.

Расхождения между параллельными пробами составляли от 4 до 10% от найденной величины.

Таким образом, по сравнению с применявшейся Локкером [102] методикой, кроме самого метода хроматографического разделения, нами были внесены следующие изменения.

Объектом нашего исследования был значительно более однородный по своему составу белковый материал. Локкер экстрагировал мясо вебер-эдалевским раствором, мы же выделяли из мяса белки фракции миозина по методу Любимовой [24] двойным их пересаживанием путем разбавления водой солевых экстрактов при тщательной промывке осадков.

При выделении исследуемых белков из солевых экстрактов мы, как отмечено выше, не применяли рекомендуемое Локкером осаждение спиртом, так как эта операция вызывает их денатура-

цию, которая приводит к образованию в их молекулах N-концевых групп ряда аминокислот [127].

Для повышения точности метода увеличили навеску исходного материала в 20 раз.

Локкер [102] проводил гидролиз ДНФ-протеинов в присутствии соляной кислоты в течение 16—20 ч. Мы уменьшили продолжительность этой операции до 8 ч. Это было вызвано тем, что, как показали проведенные нами предварительные опыты, увеличение продолжительности гидролиза с 8 до 12 ч приводит к разрушению части ДНФ-производных аминокислот, что снижает процент их обнаружения.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ ВНУТРИМЫШЕЧНОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Критический разбор, обоснование выбора и, частично, разработки методов исследования компонентов внутримышечной соединительной ткани выполнены Кузнецовой совместно с нами [20, 37, 38а, 38в].

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ЛАБИЛЬНОСТИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ МЯСА

Метод фракционирования применим для получения характеристики состояния компонентов внутримышечной соединительной ткани на различных этапах процесса естественного созревания и при обработке мяса протеолитическими ферментами. Это объясняется тем, что распределение коллагена и основного вещества по фракциям соответствует их состоянию, их лабильности по отношению к различным агентам.

Изучение лабильности этим методом представляется особенно целесообразным в отношении основного вещества, которое при существующих методах препаративной химии не может быть выделено из мяса без изменения исходного состояния.

Канвой для разработки метода фракционирования послужил описанный в работе Миллера и Касталека [108] способ выделения стромы (соединительнотканной основы) мяса для изучения фибриллярных компонентов соединительной ткани.

Принятая нами методика фракционирования основана на том, что солевая экстракция животной ткани, проведенная в определенных условиях, дает возможность отделить компоненты соединительной ткани, входящие в ее состав, от большой группы белков (как было показано опытами — до 40%), не имеющих к ней отношения. Кроме того, она одновременно позволяет опре-

делить в остатке количество гексозаминов принадлежащих основному веществу внутримышечной соединительной ткани.

Дополнительная экстракция остатка щелочью приводила к отделению от стромы наиболее лабильной фракции коллагена (10—15% от его содержания в мясе), а также давала возможность проследить, как протекает растворение основного вещества, чувствительного к действию щелочи.

При дальнейшем автоклавировании нерастворившегося в щелочи остатка мы не старались достичь полного отделения коллагена, так как только таким путем возможно выявить лабильность главной его фракции.

Растворимая при автоклавировании фракция содержала 70—80% коллагена и небольшое количество гексозаминсодержащих веществ, которые мы назвали «труднорастворимыми».

Остаток после автоклавирования состоял из эластина, не удаленного однократным автоклавированием коллагена, и содержал следы гексозаминов, указывающих на присутствие незначительных количеств мукополисахаридов.

Для изучения изменений внутримышечной соединительной ткани наиболее удобным объектом признана полусухожильная мышца, которая содержит сравнительно большие количества соединительнотканых белков и одновременно представляет собой одну из наиболее однородных мышц говяжьей туши [69, 123, 124].

Навеску измельченного мяса (20 г) заливали охлажденным 0,6M раствором KCl и тщательно размешивали в течение 10 мин. Для лучшего улавливания белков стромы в экстракционную смесь добавляли в небольшом количестве стеклянную вату. Экстракт отделяли центрифугированием, а остаток дважды промывали тем же раствором KCl.

Объединенный с промывными порциями экстракт представлял собой фракцию, которую называли содерастворимой, и, как было установлено, она не содержала соединительнотканых компонентов.

Остаток после этой обработки заливали 150 мл 0,1 н. раствором NaOH и настаивали в течение 16—18 ч при комнатной температуре; его периодически перемешивали — 4—5 раз в течение всего времени настаивания. Щелочной экстракт также отделяли центрифугированием, остаток промывали двумя порциями того же раствора щелочи и жидкость после промывки присоединяли к основному экстракту, получая таким путем II (щелочерастворимую) фракцию.

Остаток после щелочной экстракции нейтрализовали до pH 7,0 и подвергали автоклавированию с 100 мл воды при давлении в автоклаве около 4,5 бар в течение 3 ч. По окончании автоклавирования фильтровали при температуре около 60° С

с отделением нерастворившейся части на стеклянной вате; остаток, задержанный на фильтре из стеклянной ваты, промывали водой той же температуры.

Полученный при автоклавировании экстракт, объединенный с промывными водами, составлял III фракцию, названную фракцией, растворимой при автоклавировании.

Остаток после автоклавирования представлял собой IV, нерастворимую при автоклавировании фракцию.

Полученные фракционированием экстракты оценивали по содержанию в них оксипролина и гексозаминов, характеризующих соответственно количество фибриллярных соединительнотканых белков (коллагена и эластина) и аморфного основного вещества. Кроме того, оценку производили по содержанию общего количества азотистых веществ.

Ниже приводится схема фракционирования компонентов внутримышечной соединительной ткани мяса.



МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФИБРИЛЛЯРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ВНУТРИМЫШЕЧНОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ.

Как мы отмечали ранее [38а], методы отделения коллагена и эластина от других составных частей мышц и органов животных с целью определения их содержания дают неудовлетворительные результаты, так как весьма громоздки и трудоемки. Они основаны либо на нерастворимости коллагена и эластина в обычных растворителях для белков [26, 51, 79, 84, 103, 110], либо на избирательном растворении коллагена, когда другие компоненты остаются в осадке [66], или на устойчивости коллагена и эластина к действию протеолитических ферментов, переваривающих другие тканевые белки [72, 82]. Определяли кол-

лаген и эластина после перевода коллагена в растворимый глютин автоклавированием с водой по разнице в весе остатков либо по азоту отдельных фракций.

Применявшийся многими исследователями гистологический метод позволяет прежде всего обнаружить присутствие тех или иных компонентов соединительной ткани, так как отдельные ее элементы могут окрашиваться в'различный цвет.

Работы немецких исследователей [92, 93, 101, 135] направлены на то, чтобы гистохимический метод применить для количественной оценки содержания соединительной ткани в мясе и мясopодуктах, в частности в колбасах.

При этом для оценки колбасных изделий применяли метод окрашивания срезов по Хайденаху и определяли площадь поверхности, занятой частями соединительной ткани, а полученные данные с помощью специальных интеграционных таблиц пересчитывали на объем колбас. Таким образом, содержание соединительной ткани выражали объемной величиной.

Этот метод не находит широкого распространения в настоящее время вследствие небольшой точности и зависимости полученных результатов от многих факторов.

Выполненное Левеном и Гроссом [100] сравнение методов анализа тканевого коллаген показало, что лучшие результаты дает метод гидролиза ткани с последующим определением специфических продуктов.

В 1950 г. Ньюменом и Логаном был разработан метод непосредственного определения соединительной ткани в биологических объектах, основанный на определении оксипролина, содержащегося в белках коллагеновой группы в уникально высоких и постоянных количествах [116]. Начиная с этого времени, биохимики получили возможность довольно точно установить содержание коллагена и эластина в различных органах и тканях.

Метод определения оксипролина по Ньюмену и Логану [115] заключается в его окислении до пиррола перекисью водорода в щелочных растворах в присутствии меди, удалении избытка перекиси и развитии окраски с пара-диметиламинобензальдегидом в кислой среде. Оксипролин, содержащийся в биологических материалах, освобождается гидролизом в присутствии соляной кислоты. Как было установлено, определению оксипролина может препятствовать присутствие триптофана и тирозина, которые с пара-диметиламинобензальдегидом в аналогичных условиях также дают окрашенные в красный цвет соединения. Однако окраска их составляет всего лишь 0,7 и 1,5% (соответственно) от окраски, развиваемой теми же количествами оксипролина. Кроме того, при гидролизе белков в присутствии соляной кислоты триптофан разрушается. Авторы утверждают, что этот метод пригоден для определения в гидролизатах, содержа-

щих от 40 до 100 мкг коллагена при воспроизводимости и точности определения $\pm 2\%$.

Метод Ньюмена и Логана подвергался многократной проверке и модификации. Большой вклад в изучение оптимальных условий определения был сделан Бейкером, Лэмпитом и Брауном [45, 46, 96], Мартином и Аксельродом [106], Вербицким и Детерейджем [148], Мияда и Таппелем [112], Личем [99].

Особенно важна работа Вербицкого и Детерейджа [148], которые подробно исследовали условия кислотного и щелочного гидролиза мышечной ткани, предшествующие определению в ней содержания оксипролина и самой реакции открытия оксипролина.

Для установления оксипролина, кроме метода Ньюмена и Логана, предложены и другие методы: полярографический Хванг-ла и Заградника [61], Тролла, основанный на реакции с нингидрином [145], Штегеманна [142] с применением при окислении хлорамина-Т, Кивирякко и Лизмаа [90] при использовании в качестве окисляющего агента гипобромита натрия. Последний является очень чувствительным и позволяет определять оксипролин в концентрации 1—5 мкг/мл. Однако наиболее широкое применение имеет метод Ньюмена и Логана, который апробирован и в СССР [18] при определении качества мяса.

Таким образом, метод определения коллагена как компонента соединительной ткани по оксипролину — признанный. Что касается эластина, то ввиду малого содержания в нем оксипролина (около 2%) при его определении по этому показателю может возникнуть значительная ошибка. Поэтому этот компонент чаще определяют гравиметрически, т. е. взвешиванием остатка после удаления из него всех более лабильных, чем эластин компонентов.

Для пересчета оксипролина в «соединительную ткань» необходимо знать или заранее определить соотношение коллагена и эластина в этой ткани. Так, для длиннейшей мышцы спины крупного рогатого скота Вербицкий и Детерейдж вывели соотношение коллагена и эластина как 84:16 и для перевода найденного количества оксипролина в соединительную ткань применили пересчетный коэффициент 8,07. Однако, принимая содержание оксипролина как индекс соединительной ткани в мясе, нет необходимости делать такой пересчет, если это не вызвано какими-либо особыми соображениями, тем более что в одном и том же мускуле могут иметь место изменения в соотношении коллагена и эластина у животных различного пола, возраста и в зависимости от условий содержания.

При определении содержания оксипролина в мясе мы брали навеску измельченного мяса 5 г. Если оно велось в одном из экстрактов, полученных при фракционировании внутримышечной соединительной ткани, то исходным материалом служили аликвотные порции по 10—20 мл экстракта. Нерастворившийся при

автоклаивировании остаток (IV фракция) полностью подвергали гидролизу.

К материалу в гидролизной колбе добавлялись: двадцатикратное (по отношению к весу белка в навеске) количество соляной кислоты с таким расчетом, чтобы получить 6 н. концентрацию ее в гидролизной колбе, и навеску хлористого олова. Последнюю брали в количестве $\frac{3}{4}$ к весу белка для предупреждения образования гуминовых веществ, являющихся помехой. Гидролиз при легком кипении содержимого продолжался 7 ч.

По окончании гидролиза гидролизаты вначале нейтрализовали 6 н. раствором NaOH до момента появления устойчивой муты, а затем pH доводился до 8,0 насыщенным раствором углекислого натрия. Нейтрализованные гидролизаты переносили в мерную колбу и после охлаждения объем их доводили до 100 мл (при необходимости делали дополнительное разведение). Образовавшийся при нейтрализации осадок $\text{Sn}(\text{OH})_2$ удаляли фильтрацией через плотный бумажный фильтр. Гидролизаты были прозрачными, золотисто-желтого цвета.

Для определения в полученных гидролизатах оксипролина по Ньюмену и Логану употреблялись следующие реактивы:

1. NaOH — 2,5 н. раствор; 2. CuSO_4 — 0,05M раствор; 3. H_2O_2 — 6%-ный раствор; 4. H_2SO_4 — 3 н. раствор; 5. Парадиметиламинобензальдегид (перекристаллизированный из этилового спирта) — 5%-ный раствор в нормальном пропиловом спирте.

Исследования велись в химических пробирках нейтрального стекла.

В каждую пробирку вносили 1 мл испытуемого раствора, 2 мл свежеприготовленной смеси равных объемов растворов 0,05M CuSO_4 и 2,5 н. NaOH и прибавляли 1 мл 6%-ного раствора перекиси водорода. После внесения перекиси водорода содержимое пробирок сразу же перемешивали, осторожно встряхивая, и отмечали время, отведенное на окисление оксипролина. Через 5 мин, в течение которых встряхивали содержимое пробирок несколько раз, пробирки помещали в водяную баню с температурой 75° С на 10 мин для удаления избытка перекиси водорода. Присутствие последней в дальнейшем может мешать развитию окрашивания. Для полного удаления перекиси пробирки несколько раз встряхивали. После ее удаления их охлаждали проточной водопроводной водой, и в каждую добавляли по 4 мл 3 н. H_2SO_4 и по 2 мл раствора пара-диметиламинобензальдегида в Н-пропиловом спирте. Содержимое тщательно перемешивали.

Затем пробирки погружали в водяную баню с температурой 75° С на 20 мин, после чего быстро охлаждали. Интенсивную красную окраску, образующуюся при нагревании, измеряли фотоэлектроколориметром с зеленым светофильтром в кювете толщиной 1 см.

Параллельно проводили развитие окраски со стандартными растворами оксипролина, соответствующей (близкой к ожидаемой в опыте) концентрации. Это проводилось с целью контроля колебаний в результатах окрашивания растворов, содержащих одинаковое количество оксипролина.

Построение калибровочного графика по чистому оксипролину свидетельствует о том, что в пределах концентраций оксипролина от 5 до 25 мкг реакция подчиняется закону Ламберта — Бера.

Оптическая плотность окрашенных растворов измерялась против контрольных образцов, в которых испытуемые растворы заменяли дистиллированной водой.

Расчет содержания оксипролина в мясе производился по формуле

$$C_{\text{оп}} = \frac{ab}{c} \cdot 100,$$

где $C_{\text{оп}}$ — содержание оксипролина;

a — мг оксипролина в 1 мл испытуемого гидролизата;

b — объем испытуемого гидролизата с учетом разведения;

c — навеска ткани, взятая для гидролизата, г.

Результат выражался в мг% к сырой ткани.

Точность определения составляет $\pm 2,0\%$.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗВАРИВАЕМОСТИ КОЛЛАГЕНА

Как указывалось выше, различные отруба мяса содержат коллаген, который имеет разную устойчивость к гидротермическому воздействию. Кроме того, имеется упоминание о том, что развариваемость коллагена изменяется в зависимости от срока созревания мяса. Нам не удалось найти в литературе описания удовлетворительного метода определения развариваемости коллагена. Между тем неудачи попыток прежних исследователей, в том числе и наших [38б], обнаружить изменения соединительной ткани в процессе созревания мяса следует отнести за счет несовершенства и недостаточной специфичности применявшихся методов.

Предварительные опыты по выявлению оптимального времени варки мяса для последующего определения оставшегося в нем нерасщепленного коллагена показали, что наиболее приемлемая температура около 100° С при длительности процесса 1,5 ч.

Примененная методика [38в] основана на определении разницы в содержании оксипролина в сыром мясе и в подвергнутом варке при определенных условиях.

5-граммовые навески мяса, измельченного на мясорубке с диаметром отверстий решетки 4 мм, помещали в стеклянные

пробирки с притертыми пробками, куда добавлялось 10 мл дистиллированной воды. Пробирки помещали в кипящую водяную баню, и их содержимое варили в течение 1,5 ч. Затем содержимое отмывали от глютена нагретой до 50—55°С дистиллированной водой, и остаток количественно переносили в коническую с прищипованным лабораторным воздушным холодильником колбу для гидролиза. После гидролиза в 6 н. HCl в течение 7 ч определяли количество оксипролина до и после тепловой обработки мяса.

Таким образом, мы получали содержание соединительнотканых фибриллярных белков, выраженное в количестве оксипролина, до и после варки мяса в заданных условиях. Учитывая, что содержание эластана в эндомизии и перемизии мышцы невелико по сравнению с содержанием коллагена, а также то, что он содержит всего лишь около 2% оксипролина, мы сочли возможным условно отнести весь найденный в мясе оксипролин к коллагену.

Развариваемость коллагена рассчитывали как разницу между содержанием оксипролина в сыром и отмытом от глютена вареном мясе, отнесенную к его содержанию в сыром мясе, выраженную в %:

$$P = \frac{ОПс - ОПв}{\pm ОПс} \%,$$

где P — развариваемость коллагена;

$ОПс$ — оксипролин сырого мяса;

$ОПв$ — оксипролин вареного мяса.

Определение оксипролина производили по методу Ньюмена и Логана [115], описанному выше. Точность определения $\pm 2,0\%$.

МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ОСНОВНОГО ВЕЩЕСТВА ВНУТРИМЫШЕЧНОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Долгое время оценивали соединительную ткань в различных органах и тканях почти исключительно по соотношению имеющихся в ней фибриллярных компонентов — коллагена и эластана. Однако за последние годы неуклонно возрастает внимание к ее третьему компоненту — основному (межучточному) веществу. Как для биологов и врачей, так и для исследователей в области мясной промышленности большой интерес представляет изучение соединительной ткани в ее морфологической целостности. Так, например, если для оценки качества жиловки мяса может быть достаточно определить наличие в нем фибриллярных соединительнотканых компонентов, то оценка зависимости консистенции мяса от количества содержащейся в нем соединительной ткани до последнего времени еще не была должным образом разработана. Количеством коллагена и эластана в мясе

нельзя объяснить различную развариваемость соединительной ткани различных образцов мяса при их кулинарной обработке, так как этот показатель находится в зависимости не только от доли этих веществ в мясе, но и от состояния коллагеновой соединительной ткани.

Несомненно, что степень полимеризации межучточного вещества, прочность связи его с фибриллярными компонентами и комплексность с другими белками зависят от возраста животного и многих других факторов [85, 91, 113] и имеют большое влияние на соединительную ткань мяса (ее лабильность и физико-химические свойства). Если рассматривать соединительную ткань как морфологическое целое из коллагеновых и эластиновых волокон, сценентированных основным веществом и как бы погруженных в него, то даже самые чувствительные методы определения фибриллярных компонентов не в состоянии будут достаточно полно объяснить причины ее изменений.

В исследованиях, проводимых для медицинских целей, почетное место занимает гистохимический метод оценки межучточного вещества. С целью выявления полисахаридов основного (межучточного) вещества чаще других применяют реактив Шиффа (лейкофуксин). Дифференциальную оценку кислотных мукополисахаридов, таких как гиалуроновая и хондроитинсерная кислоты, осуществляют метахроматическим окрашиванием их с помощью основных красителей тиазиновой группы (толуидин блау, тионин и др.).

Однако гистологическим методом можно выявить лишь наличие и направление изменений исследуемого компонента, а не вскрыть их биохимическую сущность.

Аналитически мукополисахариды в биологических объектах оценивают по их составным частям (аминосакхара, гексуронозавя кислота) либо путем препаративного выделения из исследуемой ткани [107, 120 и др.]. Преимущество последнего то, что этот способ дает возможность анализировать физические и химические свойства выделенных веществ, их состав и структуру.

При выделении мукополисахаридов неизбежны как потери веществ, так и изменения, вызываемые даже очень осторожной обработкой. Поэтому, несмотря на большое количество методов, предложенных для выделения мукополисахаридов, широкого распространения они не получили. При исследовании такого объекта, как мышечная ткань, выделить мукополисахариды еще труднее, так как их содержание очень невелико.

Удовлетворительный метод для определения гексозаминов как составной части мукополисахаридов в биологических объектах предложили в 1933 г. Эльсон и Морган [64]. Основа его — конденсация гексозаминов с ацетилацетоном или этилацетатом с образованием производных пирирола и затем развитие красной окраски с пара-диметиламинобензальдегидом.

Методы, разработанные позже, представляют собой модификации метода Эльсона и Моргана и направлены на устранение помех и улучшение условий проведения реакций, связанных с образованием окраски.

При практическом применении метода Эльсона и Моргана было обнаружено, что гидролизаты, приготовленные из различных растительных и животных тканей, содержат большое количество веществ, проявляющих себя в данном случае как хромогены со спектром поглощения, близким производным гексозаминов.

Были предложены различные способы устранения влияния этих помех: обработка гидролизатов «основным реактивом», содержащим концентрированную трихлоруксусную кислоту, хлористый и едкий натр [9, 10, 19], отгонка летучих хромогенов, образующихся при реакции ацетилирования [60], хроматография на катионообменных смолах [54].

Бос [54] подробно исследовал условия, необходимые для получения оптимальных результатов количественного определения гексозаминов в тканях и органах животного. Его данные положены в основу исследований, проводившихся позже. Метод Боса был успешно применен в исследованиях Касавинной и Зенкевич [16].

При проведении гидролиза на кипящей водяной бане Бос определил потери гексозамина за 15 ч в зависимости от концентрации кислоты.

Концентрация кислоты (н.)	0	2	3	4	5	6
Оптическая плотность при 530 мкм	0,137	0,137	0,132	0,128	0,122	0,109
% разрушения глюкозамина	0	0	3,6	3,6	11,0	20,4

Сравнивая результаты гидролиза образцов плазмы, печени, желез, соединительной ткани, Бос установил также, что оптимальное время гидролиза зависит от вида гидролизующейся ткани.

По нашим данным [20], при гидролизе мяса на кипящей водяной бане в 4 н. растворе HCl получаются следующие результаты:

Продолжительность гидролиза, ч	4	5	6	7	8	9
Оптическая плотность при 530 мкм окраски, развиваемой гидролизатом в условиях реакции Эльсона и Моргана	0,138	0,147	0,153	0,160	0,150	0,139

Из этого следует, что оптимальное время для освобождения гексозаминов в данных условиях гидролиза составляет 7 ч.

Гидролиз проводили в стеклянных пробирках с пришлифованными пробками. Кислоту брали в 35-кратном количестве по отношению к количеству белка в навеске.

Для гидролиза использовали 2 г навески измельченного мяса или аликвотную порцию экстрактов фракций I, II, III — 10 мл. По окончании гидролиза пробирки охлаждали, и гидролизаты подвергали очистке на катионообменниках.

По данным Боса, на колонку длиной 25 см и диаметром 1 см, содержащую 5 мл суспензии Дауэкс-50 в воде (1:1), одновременно можно дать в зависимости от концентрации соляной кислоты в испытуемом гидролизате 10 мл 0,25 н., 5 мл 0,5 н. или 2 мл 1 н. солянокислотного гидролизата.

Бос [54] определил, что скелетная мышца крысы содержит меньше 28 мг % гексозаминов к весу сырой ткани. Наши предварительные опыты также показали небольшое содержание гексозаминов в мясе. Поэтому для приведения гидролизатов к желаемой кислотности (0,25 н. HCl) мы проводили их выпаривание в вакууме до сухого состояния с последующим разведением остатка в кислоте соответствующей крепости.

В катионообменник вносили 10 мл полученного таким образом раствора.

При прохождении гидролизатов через колонку гексозамины адсорбируются катионитом, а многие мешающие вещества проходят через нее и дополнительно вымываются водой. На колонке задерживаются гуминовые вещества, которые вымываются щелочью уже после элюирования гексозаминов.

После прохождения гидролизата колонку промывали 10 мл дистиллированной воды, а затем элюировали гексозамины 7 мл 2 н. раствора HCl и элюат собирали в мерные цилиндры или колбы объемом 10 мл. По окончании сбора элюат нейтрализовали 2 н. NaOH до розового окрашивания по фенолфталеину, затем 1 н. HCl по каплям до исчезновения розовой окраски. При этом количество добавленной щелочи в кислоты учитывали для того, чтобы в дальнейшем можно было уравнивать концентрацию соли, оказывающей влияние на ход определения. Нейтрализованный, совершенно бесцветный и прозрачный элюат доводили дистиллированной водой до объема 10 мл.

Для определения гексозаминов употребляли следующие реактивы:

1. Ацетилацетон, подвергнутый перегонке в вакууме, бесцветный 2%-ный раствор в 1 н. Na_2CO_3 ; 2. Пара-диметиламинобензальдегид, перекристаллизованный из этилового спирта, 2,7%-ный раствор в смеси этилового спирта и концентрированной HCl в отношении 1:1 (реактив Эрлиха); 3. NaCl — 4 н. раствор; 4. Na_2CO_3 — 1 н. раствор.

Использовали пробирки из нейтрального стекла с пришлифованными пробками.

В них наливали 1,5 мл испытуемого элюата. Параллельно с испытуемыми брали стандартные растворы глюкозамина в концентрациях, близких к ожидаемым в опытных растворах.

В контрольные пробирки вместо испытуемого раствора брали дистиллированную воду. Во все пробирки приливали рассчитанный объем 4 н. раствора поваренной соли (так, чтобы после доведения объема до 3 мл получилась 2 н. раствор) и дистиллированной воды — до объема 3 мл.

Затем во все пробирки вносили по 1 мл свежеприготовленного раствора ацетилацетона в 1 н. Na_2CO_3 и после перемешивания содержимого их плотно закрывали пробками и помещали в водяную баню, погружая в воду только до уровня содержимого.

Ацетилирование проводили при температуре 89—92° С в течение 45 мин. Более низкая температура, как указывает Бос [54], приводит к неполному ацетилированию; более высокая — снижает специфичность реакции.

По истечении 45 мин пробирки охлаждали в проточной водопроводной воде. В каждую приливали 3 мл этилового спирта, 1 мл реактива Эрлиха и еще 3 мл этилового спирта. Каждый раз перемешивали содержимое пробирок и следующее добавление делали не раньше, чем через 5 мин после предыдущего.

После внесения реактива Эрлиха в течение 40—60 мин интенсивно выделяются пузырьки углекислого газа. Для ускорения выделения углекислого газа пропускали воздух через капиллярную трубку, погруженную в испытуемый раствор. Окраска развивается довольно быстро, и она очень устойчива. Колориметрировали по сравнению с контрольным на колориметре ФЭК-М с зеленым светофильтром в кювете толщиной 2 см.

Определения проводили при концентрации гексозаминов от 10 до 30 мкг в 1 мл.

Суммарное определение гексозаминов в мясе практически не дает точного представления об их содержании в соединительной ткани мяса, так как часть их связана с белками плазмы. Эта часть может быть удалена экстракцией 0,6 М раствором KCl.

Мак Интош [114] установила, что остающиеся в строме гексозамины полностью принадлежат мукопротеинам соединительной ткани и могут служить индексом содержания этой большой и важной группы веществ соединительной ткани.

Вычисляя разницу между общим количеством гексозаминов мяса и их содержанием в фракции плазменных белков (в растворимой фракции), мы получили возможность не только оценить количество мукопротеинов внутримышечной соединительной ткани, но и убедиться в одновременном изменении лабильности этого компонента. Последняя определяется по его растворимости в щелочи (исследование «щелочерастворимой фракции»).

Точность в большинстве случаев составляет $\pm 10,0\%$ от найденной величины.

В настоящее время разработаны и применяются хроматографические методы разделения и анализа нуклеотидов, нуклеозидов и свободных пуринов [4, 41, 58, 63, 68, 138, 141]. Однако для выполнения точных исследований в ряде случаев целесообразно пользоваться более трудоемким методом химического разделения фракций пуринового азота [386]. Основы методики аналитического разделения и количественного определения нуклеотидов, нуклеозидов и свободных пуринов мышечной ткани разработаны Остерном [118], Керром [87], Хитчингом [81], Керром и Серайларьяном [89].

Сущность метода заключается в том, что из безбелкового экстракта мышечной ткани нуклеотиды осаждают уксуснокислым уранилом и затем гидролизуют до стадии свободных пуринов; из оставшегося после осаждения нуклеотидов раствора свободные пурины осаждают в кислой среде азотнокислым серебром, а нуклеозиды подвергают кислотному гидролизу также до стадии свободных пуринов.

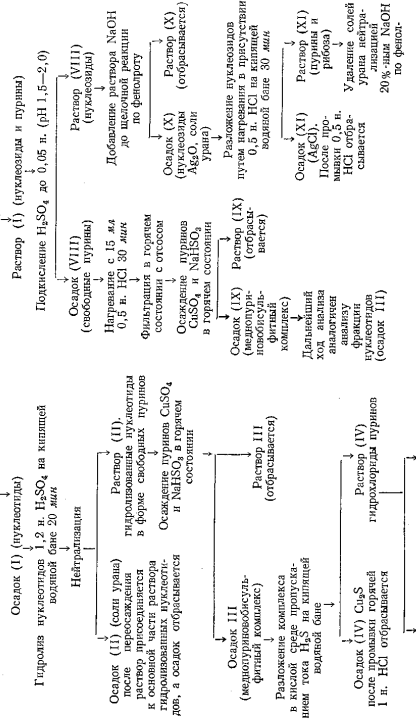
Во всех трех фракциях свободные пурины осаждают в виде меднопуриновобисульфитного комплекса, который затем разлагают сероводородом в солянокислой среде, и пурины переводятся в раствор в форме своих гидрохлоридов. В отдельных порциях этого раствора для каждой фракции определяют общий пуриновый азот, а в другой части раствора аденин и гипоксантин разделяют пикриновокислым раствором пикрата натрия (в кислой среде пикрат аденина практически нерастворим). Оставшийся в растворе гипоксантин переводят азотнокислым серебром в осадок и отделяют от хлоридов обработкой горячей концентрированной азотной кислотой (AgCl при этом остается в осадке).

Серебряный нитрат гипоксантина подвергают минерализации 10 н. H_2SO_4 , после чего оттитровывают по Фольгарду серебро, находившееся в связанной с гипоксантином форме. По разности между общим пуриновым азотом и азотом гипоксантина определяют азот аденина данной фракции (нуклеотидов, нуклеозидов или свободных пуринов).

Ввиду незначительного содержания азот гуанина не принимается в расчет.

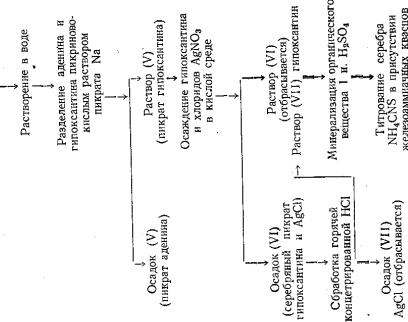
Ход проведения анализа нуклеотидов, нуклеозидов и свободных пуринов приведен в следующей схеме.

Осаждение нуклеотидов уранилом в уксуснокислой среде



отдельной порции определение общего пуринового азота нуклеотидов

Уливание досуха при пропускании тока горячего воздуха



Осадок (XII) (соли урана) Пересадка и добавление раствора к основной части раствора пуринов. После пересадки осадок отбрасывается

Раствор (XII) Осаждение пуринов $CuSO_4$ и $NaHSO_3$ в горячем состоянии

Осадок (XIII) (меднопуриновосульфидный комплекс)

Дальнейший ход аналогичен анализу фракции нуклеотидов и свободных пуринов (осадки III и IX)

Раствор (XIII) (отбрасывается)

Изучали распределение пуринового азота по фракциям в мясе после 2 ч варки при 90°С. Для этого навеску в 45 г, состоящую из пропорционально взятых количеств измельченного вареного мяса и бульона, помещают в фарфоровую ступку, заливают 40 мл 10%-ной трихлоруксусной кислоты и растирают с песком. Сливают экстракт в центрифужный стакан, а к остатку прибавляют еще 40 мл 10%-ной трихлоруксусной кислоты и после повторения экстракции вновь сливают его в центрифужный стакан. Туда же переносят остаток, смывая его из ступки порцией в 40 мл трихлоруксусной кислоты и центрифугируют. Затем экстракт сливают, нейтрализуют по фенолфталеину сначала 40%-ным, а под конец 10%-ным раствором NaOH и доводят 10%-ным раствором нейтрализованной трихлоруксусной кислоты до определенного объема (150 мл.). Выпавший во время нейтрализации осадок отфильтровывают или отделяют центрифугированием.

Определение нуклеотидов. 150 мл нейтрализованного трихлоруксусного фильтрата отмеряют порциями по 35 мл каждая в три центрифужные пробирки по 50 мл, одна из которых градуирована на 15 мл. На каждые 20 мл этого фильтрата прибавляют 1 каплю 10%-ного раствора уксусной кислоты, в результате чего pH нейтрализованного трихлоруксусного экстракта смещается от 8,3 до 6,8. Затем добавляют небольшой избыток (около 0,7 мл на каждые 3,5 мл фильтрата) насыщенного при комнатной температуре раствора уксуснокислого уранила (приблизительно 8%-ный раствор). Большой избыток может вредить дальнейшему определению. Перемешивают стеклянными палочками и дают осадку осесть для того, чтобы установить цвет жидкости. Если она приобретает слегка желтый цвет, то это указывает на наличие необходимого избытка уксуснокислого уранила.

Затем центрифугируют смесь, жидкость сливают, а осадок дважды промывают разбавленным подкисленным урановым реагентом. Промывные воды присоединяют к основному количеству жидкости, и этот раствор сохраняют для определения нуклеозидов и свободных пуринов. В том случае, если жидкость не является совершенно прозрачной, она должна быть отфильтрована и осадок присоединен к фракции нуклеотидов.

Для того чтобы перенести из трех пробирок весь осадок нуклеотидов в одну, растворяют один из осадков в 2 мл 10 н. H₂SO₄, переносят во вторую пробирку и, наконец, в третью, имеющую градуировку на 15 мл. Аналогичным способом промывают каждую пробирку водой, и промывные жидкости из двух пробирок собирают в третью градуированную пробирку. Для промывки берут количество воды, которое обеспечивает конечный объем в последней пробирке, несколько меньший 15 мл. Полученная кислотность приблизительно нормальная, так как от 0,3 до 0,5 мл кислоты расходуется на растворение осадка. Затем

нуклеотиды гидролизуют погружением пробирки в кипящую воду на 20 мин, после чего раствор нейтрализуют 10%-ным NaOH и затем следует подкислить при помощи 5%-ного раствора уксусной кислоты.

Выпавший при этом урановый осадок отделяют центрифугированием. Переносят жидкость после центрифугирования в другую центрифужную пробирку на 50 мл. Вместо промывания осадок растворяют в 1 мл 1 н. H₂SO₄, ополаскивают стенки пробирки и переосаждают нейтрализацией, как описано выше. Центрифугируют и прибавляют жидкость после центрифугирования в пробирку, содержащую главную массу гидролизovaných нуклеотидов. Эту пробирку, в которой находится раствор пуринов, помещают в кипящую водяную баню и, когда раствор становится горячим, к нему прибавляется 0,8 мл насыщенного раствора бисульфита натрия (или 1 мл 40%-ного раствора) и 1 мл 10%-ного раствора CuSO₄. Раствор бисульфита должен быть свежеприготовленным, так как при хранении в нем снижается концентрация NaHSO₃. Смесь нагревают в течение 3 мин при размешивании стеклянной палочкой. Красно-коричневый осадок бисульфита меди и мднпуринового бисульфитного комплекса затем отделяют центрифугированием и дважды промывают четырёхмиллилитровыми порциями горячей воды.

Осадок размешивают с 3 мл 3 н. HCl, и эту смесь нагревают до кипения на водяной бане. Раствор разбавляют приблизительно до 10 мл кипящей водой, немедленно погружают в кипящую водяную баню и через него пропускают ток сероводорода. Через 3 мин, когда разложение мднпуриновых комплексов закончится, горячий раствор фильтруют в мерную колбу на 25 мл через свободный от азота фильтр диаметром 7 см. Пробирку и фильтр промывают горячей 1 н. HCl и после охлаждения до комнатной температуры содержимое мерной колбы разбавляют до 25 мл. В этом растворе отдельно определяют общий пуриновый азот нуклеотидов по микрокельдалю и азот гипоксантина.

Определение азота гипоксантина. 17 мл раствора упаривают досуха, пропуская горячий воздух через пробирку с жидкостью, погруженную в горячую воду. Когда объем жидкости в ней уменьшится до 5 мл, водяную баню перестают нагревать, и поэтому температура в конце упаривания не превышает 30°С. Затем гидрохлориды пуринов растворяют в 4 мл горячей воды, раствор охлаждают и к нему прибавляют 2 мл раствора пикрата натрия, подкисленного по метилоранжу пикировой кислотой. При этих условиях реакции среды пикрат аденина выпадает в осадок, а гипоксантина — остается в растворе.

Раствор немедленно фильтруют через асбест. Пробирку и осадок промывают первый раз 2 мл, а затем 1 мл полунасыщенного раствора пикрата натрия, подкисленного по метилоранжу

пикриновой кислотой (осадок, содержащий аденин далее не исследуют).

Затем к фильтрату прибавляют 3 мл 1 н. HNO_3 и этот раствор нагревают на кипящей водяной бане.

Гипоксантин и хлориды осаждают прибавлением по каплям 2 мл 0,2 н. раствора AgNO_3 при нагревании, которое продолжается в течение 5—10 мин, проверяя полноту осаждения; затем раствор медленно охлаждают до комнатной температуры.

После охлаждения его фильтруют через асбест. При этом большая часть осадка остается в пробирке, которая смывается декантацией тремя порциями воды по 5 мл.

Серебряный пикрат гипоксантина растворяют в 3 мл горячей концентрированной HNO_3 , и он превращается в серебряный нитрат гипоксантина, а хлорид серебра при этом остается в осадке. Для их разделения смесь вновь пропускают через асбестовый фильтр и фильтрат помещают в пробирку из тугоплавкого, нейтрального стекла.

Пробирку и фильтр промывают тремя порциями горячей HNO_3 по 3 мл.

После прибавления 1 мл 10 н. H_2SO_4 фильтрат и промывные воды упариваются и органическое вещество озоляется при добавлении 1—2 капель HNO_3 . Прибавляют 3 мл воды и 1 мл насыщенного раствора железосамничных квасцов, после чего раствор титруют 0,01 н. раствором тиоцианата. Из полученной величины вычитают количество тиоцианата, пошедшее на титрование в холостом опыте. 1 мл 0,01 н. раствора тиоцианата эквивалентен 0,56 мг азота гипоксантина.

Ошибка определения составляет $\pm 1,0\%$. По этому методу определяют содержание гипоксантина во всех трех фракциях пуринов.

Определение нуклеозидов и свободных пуринов. Для этой цели употребляют жидкость, оставшуюся после центрифугирования и отделения нуклеотидов осаждением уксуснокислым уранилом.

Свободные пуриновые основания отделяют от нуклеозидов осаждением азотнокислым серебром в кислом растворе. Кислотность 0,05 н. H_2SO_4 (рН 1,5—2) достаточна, чтобы предупредить осаждение нуклеозидов нитратом серебра. Для этого измеряют объем фильтрата и пробивных вод после осаждения уранилом, затем жидкость подкисляют H_2SO_4 до достижения 0,05 н. ее концентрации и обрабатывают 0,02 объемами 1М раствора AgNO_3 (осаждение свободных пуринов в кислой среде).

Чтобы избежать кислотного гидролиза нуклеозидов и их возможного осаждения, осадок отделяют по возможности быстро (максимум 1 ч) центрифугированием, затем взбалтывают с водой, смывают в 50 мл центрифужные пробирки и опять центрифугируют. Жидкость после центрифугирования вместе с про-

мывными водами употребляют для определения количества нуклеозидов, а осадок сохраняют для определения свободных пуринов.

Для осаждения нуклеозидов (щелочное осаждение серебром) к жидкости, содержащей нуклеозиды, добавляют 1 н. раствор NaOH до тех пор, пока смесь не станет щелочной по фенолроту. При этом образуется осадок (щелочной серебряный осадок), содержащий не только нуклеозиды и некоторое количество окиси серебра, но также и любое количество урана, которое осталось в растворе после удаления нуклеотидов. Осадок отделяют от раствора центрифугированием в центрифужных стаканах на 250 мл, затем переносят в 50-миллиметровую центрифужную пробирку и там дважды промывают водой. После центрифугирования надосадочная жидкость удаляется.

Из серебряных осадков пурины, содержащиеся в фракциях свободных пуринов и нуклеозидов, экстрагируют соляной кислотой. Для этого осадки нагревают на кипящей бане с 15 мл 0,5 н. HCl в течение 30 мин и затем смесь фильтруют в горячем состоянии. Экстракты собирают в конические центрифужные пробирки, градуированные на 35 мл. В случае исследования фракции нуклеозидов при этом происходит их распад на пурины и риббозу.

После охлаждения фильтрат разбавляют до 35 мл 0,5 н. HCl . Дальнейший анализ солянокислотных экстрактов фракций свободных пуринов и нуклеозидов производят так. Уран осаждают из экстрактов нейтрализацией по фенолфталеину 20%-ным раствором NaOH , после чего раствор освобождают 5%-ной уксусной кислотой от цвета индикатора. Осадок солей урана отделяют центрифугированием и жидкость переносят без потерь в коническую центрифужную пробирку на 50 мл.

Вместо пробивки осадок растворяют в 3 мл 1 н. раствора H_2SO_4 и затем пересаживают. Растворы после пересаживания присоединяют к основной части фильтратов.

Соединенные жидкости затем нагревают на кипящей водяной бане, пурины осаждают добавлением 10%-ного раствора CuSO_4 и 40%-ного раствора NaHSO_4 и содержание общего пуринового азота и азота гипоксантина данной фракции (свободных пуринов или нуклеозидов) определяют при помощи вышеописанного метода.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА ЛЕТАЧИХ РЕДУЦИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

По аналогии с другими пищевыми продуктами, обладающими теми или иными ароматическими свойствами, можно полагать, что вещества, обуславливающие аромат мяса, имеют редуцирующие свойства и определение общего количества летучих

редуцирующих веществ дает представление о содержании в мясе ароматических продуктов.

Общее количество летучих редуцирующих веществ (ЛРВ) определяется нами в мясе по методу Ланга [97] с получением водного отгона ароматических продуктов по Кретовичу [17]. Этот метод несколько изменен применительно к изучаемому объекту [386].

В соответствии с принятой методикой навеску мяса в 25 г помещают в круглодонную колбу, заливают 200 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Для получения под вакуумом водного отгона колбу устанавливают в водяную баню, температуру которой доводят до 40°С, и соединяют с тремя последовательно расположенными приемными пробирками, которые служат для улавливания летучих веществ. Эти пробирки помещают в лед и последнюю из них присоединяют к вакуум-насосу. Отгоняют в течение одного часа при 15 мм остаточного давления. После окончания процесса вакуум-насос отключают, при этом давление в системе поднимается до атмосферного и в трех пробирках замеряют количество полученного отгона.

25 мл водного отгона переносят в эrlenмейеровскую колбу на 200 мл, туда добавляется 5 мл 3н. раствора NaOH и 10 мл 0,05 н. раствора KMnO_4 . Смесь оставляют при комнатной температуре на 20 ч. Одновременно ставится контрольный опыт, в котором отгон заменен дистиллированной водой. Через 20 ч в обе колбы добавляют по 5 мл 1 : 3 раствора H_2SO_4 и по 10 мл 0,05 н. раствора шавелевой кислоты. После обезвреживания избыток шавелевой кислоты оттитровывают 0,05 н. раствором KMnO_4 до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 5 мин.

Для проверки титра KMnO_4 в ту же колбу, в которой определяли количество ЛРВ, добавляют еще 10 мл шавелевой кислоты и обесцветившийся раствор снова оттитровывают 0,05 н. KMnO_4 . Расчет производят по формуле

$$X = \frac{0,4(a-b)K \cdot 100C}{P \cdot 25},$$

где X — количество ЛРВ, выраженное в мг-экв O_2 , связываемого отгоном из 100 г мяса;

a — количество мл раствора 0,05 н. KMnO_4 , пошедшее на титрование избытка шавелевой кислоты в рабочем опыте;

b — количество мл раствора 0,05 н. KMnO_4 , пошедшее на титрование избытка шавелевой кислоты в контрольном опыте;

K — коэффициент поправки 0,05 н. раствора KMnO_4 ;

C — объем отгона;

0,4 мг O_2 , соответствующее 1 мл 0,05 н. KMnO_4 ;

P — навеска мяса, г;

25 — количество мл отгона.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Для оценки препаратов протеолитических ферментов необходимо определять не только их общую активность, но и способность к воздействию на белки соединительной ткани мяса: эластин, коллаген и основное вещество. Критическое сравнение, обоснование выбора и частично разработка методов определения активности препаратов протеолитических ферментов выполнены Шумковой совместно с нами [36].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Протеазы растительного, животного или микробного происхождения не обладают строгой специфичностью, однако различные белки гидролизуются ими с неодинаковой скоростью. Поэтому при определении протеолитической активности фермента выбор субстрата должен учитывать целевое назначение данного препарата.

В литературе освещены многие методы определения протеолитической активности, которые различаются характером используемого субстрата, а также способом оценки воздействия фермента на него. В качестве субстратов употребляют казеин, гемоглобин, желатин, эдестин, фибрин, ацидальбумин и другие белки, а также синтетические пептиды.

Результаты переваривания белка под действием фермента чаще всего определяют по приросту в инкубационной смеси количества свободных аминных или карбоксильных групп (формальное титрование, определение аминного азота по Ван-Слайку, окраска нингидрином и т. п.), по увеличению в безбелковой части инкубационной смеси пептидов (биуретовая реакция), по нарастанию в безбелковом фильтрате содержания некоторых аминокислот (тирозина, триптофана, аргинина). Последние обнаруживаются по цветным реакциям или по изменению поглощения в ультрафиолете.

Особое место занимают методы, основанные на использовании в качестве субстратов комплексов белков с красителями (азоказеин, нитроказеин, азофибрин и др.), а также на определении скорости свертывания молока и уменьшении вязкости желатина.

Приведенные в предыдущей главе данные свидетельствуют о том, что интенсивность воздействия препаратов протеолитических ферментов, определяемая по уменьшению жесткости мяса, не пропорциональна их протеолитической активности, установленной по степени расщепления обычно применяемых субстратов.

Причиной этого несоответствия может быть: различная способность ферментов расщеплять белки соединительной ткани; различное их отношение к белку — субстрату, взятому для оп-

ределения активности, и к белкам мышечной ткани; неодинаковый характер действия ферментов на белковый субстрат и зависящее от этого различие в образующихся продуктах протеолиза.

Для практического использования в мясной промышленности представляют интерес ферменты, которые воздействуют на структурные мышечные белки и компоненты внутримышечной соединительной ткани, вызывая в них изменения, характерные для начальной стадии протеолиза. Ферменты, которые переваривают саркоплазматические белки и не затрагивают при этом указанные выше белковые фракции, очевидно, не могут быть использованы в качестве размягчителей мяса.

Поэтому мы производим оценку общей протеолитической активности следующими методами.

Метод водно-спиртового титрования. Определение производят по прописи, рекомендуемой Институтом спиртовой и ферментной промышленности [29]. Для этой цели готовят 5%-ный раствор желатина в фосфатном буфере, имеющем pH 7,3. К 10 мл раствора желатина добавляют 2 мл 0,1%-ного раствора фермента и полученную смесь помещают на 3 ч в термостат при 40°С. По истечении указанного срока 1 мл реакционной смеси отбирают в коническую колбочку емкостью 50—100 мл, туда же вносят 20 мл 95—96%-ного этанола и 0,2 мл 1%-ного спиртового раствора тимолфталена. Пробу титруют 0,1 н. NaOH. Конец титрования устанавливают по методу Винogradовой: после появления голубой окраски прибавляют еще 4 капли щелочи и на этом титрование заканчивают.

В контрольном опыте 1 мл смеси отбирают немедленно после соединения растворов фермента и субстрата и вливают в 20 мл этанола. Суммарное количество азота аминокислот и полипептидов, образовавшихся при ферментативном гидролизе, рассчитывают по нижеприведенным формулам.

$$PA = \frac{(a - a_k) 1,4K \cdot 12}{3 \cdot 2} \text{ единиц,}$$

где PA — протеолитическая активность в мг азота, образуемого 1 мл раствора фермента за 1 ч в единицах;

a — количество мл 0,1 н. NaOH, пошедшее на титрование опытной (термостатированной) пробы;

a_k — то же для контрольной пробы;

K — коэффициент поправки 0,1 н. раствора щелочи;

12 — общий объем реакционной смеси, мл;

1,4 — количество азота, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора NaOH, мг;

3 — продолжительность протеолиза, ч;

2 — количество ферментного раствора, взятое в реакцию, мл.

Пересчет на активность 1 г препарата фермента производят исходя из разведения препарата

$$PA_1 = \frac{(a - a_k) 1,4K \cdot 12 \cdot 1000 \cdot 100}{3 \cdot 2 \cdot 100} \text{ единиц,}$$

где PA_1 — протеолитическая активность в мг азота, образуемого 1 г сухого препарата за 1 ч;

1000 — пересчет на граммы;

100 — объем, в котором растворена навеска фермента, мл;

100 (в знаменателе) — навеска фермента, взятая для приготовления испытуемого ферментного раствора, мг.

Определение количества конечных и промежуточных продуктов распада миозина. Мы считали необходимым также оценивать протеиназную активность препаратов, предназначенных для размягчения мяса, по их действию на структурные белки мышечной ткани. В качестве субстрата был выбран белок миозина. Сущность предлагаемого метода сводится к следующему. В определенных условиях расщепляют миозин испытуемым препаратом фермента, затем в безбелковом трихлоруксусном фильтрате определяют суммарный прирост промежуточных и конечных продуктов расщепления белка по цветной реакции, разработанной Лоури [104].

Миозин готовили из парной длиннейшей мышцы спины крупного рогатого скота. Измельченную на холоде в мясорубке мышцу экстрагировали 0,6М раствором хлористого натрия (1:2 к весу измельченного мяса) в течение 15 мин. Центрифугировали с охлаждением. Для осаждения миозина к центрифугату добавляли равный объем ацетатного буфера pH 5,2 и разбавляли 10 объемами дистиллированной воды. Суспензию оставляли на ночь при температуре 4°С. Затем жидкость декантировали, осадок отделяли центрифугированием и промывали 4 раза холодной дистиллированной водой. Влажный осадок миозина растворяли в 0,6М растворе хлористого натрия, фильтровали и вновь осаждали миозин вышеуказанным методом. Осадок отделяли центрифугированием, промывали холодной водой. Выделенные белки фракции миозина сушили на холоде ацетоном или лиофилизировали.

Необходимые реактивы:

1. Суспензия миозина (20 мг %) в 0,6 н. NaCl;
2. Фосфатный буфер 0,067 М, pH 7,3;
3. Трихлоруксусная кислота 0,3 М;
4. Едкий натр 0,6 М;
5. Реактивы для цветной реакции по Лоури:
 - а) 2%-ный раствор углекислого натрия в 0,1 н. едком натре;
 - б) 0,5%-ный раствор сернокислой меди в 1%-ном виннокислом натрии или калии;

- в) смесь 50 мл реактива «а» с 1 мл реактива «б»;
г) реактив Фолина.

Для его приготовления растворяли 100 г вольфрамвокислого натрия и 25 г молибденовокислого натрия в 700 мл дистиллированной воды в колбе на 1500 мл, прибавляли 50 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты и 100 мл концентрированной соляной кислоты. Смесь осторожно нагревали в течение 10 ч в колбе с лабораторным обратным холодильником. Затем зеленый раствор охлаждали, добавляли 150 г сернокислого лития, 50 мл воды и несколько капель брома. Смесь нагревали под тягой в колбе без холодильника до удаления избытка брома, охлаждали и доводили общий объем до 1000 мл (добавлением воды). Готовый реактив не должен иметь зеленый оттенок. Реактив надо сохранять защищенным от света и пыли.

Калибровочную кривую строили по стандартному раствору тирозина, содержание которого рассчитывали на основании данных определения в его препарате азота по Кьельдалю.

Количество конечных и промежуточных продуктов распада миозина определяли следующим путем. Отмеряли по 5 мл суспензии миозина в контрольные и опытные пробирки, затем их и раствор фермента в буфере прогревали отдельно на водной бане при 37°С в течение 3 мин. После этого в контрольные пробирки добавляли 10 мл раствора трихлоруксусной кислоты и во все пробирки приливали по 5 мл раствора фермента. Опытные пробы перемешивали и инкубировали в течение 20 мин при 37°С, после чего осаждали белки 10 мл раствора трихлоруксусной кислоты. Через 10 мин после осаждения белков пробы фильтровали. 2 мл безбелкового фильтрата нейтрализовали добавлением 0,5 мл 0,6 н. едкого натра, приливали по 5 мл реактива «в» и выдерживали в течение 10 мин. Затем добавляли 0,5 мл реактива Фолина и через 30 мин фотометрировали с красным светофильтром. По калибровочной кривой определяли содержание продуктов расщепления белка в опытной и контрольной пробе (в пересчете на микрограммы тирозина). По разности содержания тирозина в опытных и контрольных пробах с учетом разведения проб, а также количества фермента, взятого в реакцию, определяли накопление продуктов гидролиза белка. Активность выражали в количестве микрограмм тирозина, освобожденного в указанных условиях из миозина под воздействием 1 мг препарата.

Формула для расчета

$$ПА = \frac{(a-b) 20}{2C},$$

где a — содержание тирозина в 2 мл безбелкового фильтрата опытной пробы;

b — то же для контроля;

C — навеска фермента, взятая в пробу, мг.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭЛАСТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Все предложенные методы основываются на измерении степени перевода в раствор нерастворимого субстрата — эластина. Это определяют либо путем сравнения субстрата до воздействия ферментом и после него [48] и нефелометрическими измерениями [49], либо по возрастанию содержания белка и продуктов его гидролиза в растворе. Последнее обнаруживают по увеличению оптической плотности при 280 мкм [71], по реакции с реактивом Фолина [49], с биуретовым реактивом [62, 75] или по изменению индекса рефракции [76]. Часть методов основана на способности эластина присоединять молекулы некоторых красок, которые переходят в раствор при ферментативном разворении эластина. В качестве таких окрашенных субстратов можно использовать орцеин-эластин [128], азозластин [126], нильблаусульфат-эластин [98] и конго-рот-эластин [117].

Последние методы так же, как и вышеописанные, дают в стандартных условиях воспроизводимые результаты и имеют ряд преимуществ благодаря их наглядности, быстрой и небольшой трудоемкости.

Предварительно проведенные нами опыты с окраской эластина нильской голубой краской показали, что этот метод имеет ряд недостатков: краска недостаточно прочно связывалась с субстратом; освободившаяся в результате действия фермента на окрашенный эластин краска ингибирует дальнейшее действие фермента; наконец, процесс приготовления окрашенного субстрата очень длителен и трудоемок. Для определения эластазной активности нами принято указание М. Наутона и других [117] о способности эластина окрашиваться конго-рот. Сущность предложенного метода заключается в том, что под действием фермента происходит освобождение краски из окрашенного эластина, по количеству которой в супернатанте и судят об активности фермента.

Известно, что на эластолитические свойства многих ферментов может оказывать ингибирующее влияние присутствие солей в реакционной смеси. Поэтому при определении эластазной активности необходимо принимать в расчет содержание солей в препарате, характер буфера и его концентрацию.

Так, при определении эластазной активности препаратов ферментов, полученных из культуры *Vac. Subtilis*, лучшие результаты оказываются при использовании фосфатных и глициновых буферных растворов низкой концентрации.

В предлагаемой нами методике ферментная реакция прекращается, когда пробы помещают в ледяную баню и добавляют такой раствор ингибитора: хлористый натрий для поджелудочной эластазы, хлористый кальций для протеазы *Vac. Subtilis*.

Необходимые реактивы:

1. Буферные растворы (карбонатный pH 8,8, 0,01 М: фосфатный pH 9,8, 0,01М; глициновый pH 9,8, 0,01М);
2. 0,02%-ный раствор конго-рот в одном из указанных буферных растворов;
3. Раствор ингибитора;
4. Субстрат эластин, приготовленный из вишней связи крупного рогатого скота по Парtridge [119].

Для выделения эластина по Парtridge и другим [119] свежую вишнюю связку крупного рогатого скота тщательно очищали от жира и пленок. Измельчали на мясорубке и экстрагировали 1%-ным раствором хлористого натрия (1:20) до отрицательной реакции на белок по пробе с трихлоруксусной кислотой. Затем осадок промывали дистиллированной водой до отрицательной реакции на ион хлора. Далее массу многократно автоклавируют с водой (1 атм, 45 мин) до отрицательной реакции с биуретовым реактивом. После этого эластин промывали горячей дистиллированной водой, спиртом, окончательно высушивали сначала спирто-эфирной смесью, затем эфиром. Сухой порошок измельчали на кофейной мельнице и просеивали через капроновое сито.

Для определения активности к 20 мг эластина добавляли 2 мл раствора конго-рот. Перемешивали в течение 10—20 мин, пока краска полностью не адсорбировалась эластином. Затем добавляли 5 мл раствора испытуемого фермента, перемешивали и смесь инкубировали в течение 1 ч при 37° С. По окончании инкубации пробы немедленно переносили в ледяную баню, после чего вносили 0,5 мл раствора ингибитора. Осадок отделяли центрифугированием и в супернатанте фотометрированием с зеленым световым фильтром определяли концентрацию конго-рот. Калибровочную кривую строили по растворам конго-рот. Активность выражали в процентах освобожденной краски (от ее количества, связанного белком) либо в миллиграммах растворенного эластина.

Для интенсивно окрашенных ферментных препаратов измеряли активность, определяя прирост азота в супернатанте.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛЛАГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

При изучении коллагенолитических свойств ферментов имеется большая опасность получить ошибочные результаты, так как используют частично денатурированный субстрат. Известно, что коллаген относится к числу белков, чрезвычайно лабильных, быстро денатурирующихся под действием тепла, солей, механического измельчения и т. п. Поэтому для определения истинной коллагеназной активности приобретает большое значение правильный выбор метода получения субстрата. Методы, основанные на применении в качестве субстратов желатина и азоколлара с этих позиций не представляются достоверными.

Наиболее близкими к нативному коллагену субстратами в литературе считают коллаген, полученный из ахиллова сухожилия крупного рогатого скота или хвоста крысы очисткой по Бейкер и Лемпигт [45, 46] и по Лемпигт и др. [96]. Нативность субстрата определяют обычно по устойчивости его по отношению к трипсину.

Измерять коллагеназную активность можно взвешиванием нерастворенного остатка белка — субстрата [86], [144] или, наоборот, определением количества продуктов, перешедших в раствор.

В последнем случае могут быть использованы определения в супернатанте: общего азота по Кельдалю, биуретовых продуктов или оксипролина [106], [115, 142]. Спектрометрические измерения не рекомендуются при изучении коллагеназной активности, поскольку они основаны на определении ароматических аминокислот, содержание которых в коллагене незначительно.

Метод, базирующийся на анализах оксипролина, имеет преимущества в тех случаях, когда используют недостаточно очищенные субстраты, однако применять его для препаратов из тех микроорганизмов, которые образуют ферменты, участвующие в обмене оксипролина, нежелательно. Использование нингидринового теста также в определенной степени приводит к искажению результатов, так как при этом учитываются только свободные аминоксигруппы и не принимается во внимание молекулярный вес продуктов, образовавшихся в результате коллагенолиза.

Из многочисленных методов нами избран тот, в котором содержание продуктов расщепления коллагена определяют с биуретовым реактивом. Метод прост и дает воспроизводимые результаты.

Необходимые реактивы:

1. Ацетатный буфер pH 5,5 (0,176М по ацетату натрия);
2. Биуретовый реактив: к 42 мл насыщенного раствора едкого натра (без CO₂) добавляют 300 мл воды; отдельно растворяют в 500 мл воды 1,5 г сернокислой меди и 6 г сегнетовой соли. Оба раствора сливают при перемешивании и добавляют воду до получения 1 л смеси;
3. Субстрат — коллаген.

Коллаген готовили из ахиллова сухожилия крупного рогатого скота по методу Лемпигт и Бейкера [45, 46, 96]. Отобранное на мясокомбинате сухожилие очищали от мышечной ткани, жира и оболочек. Немедленно охлаждали и измельчали на волчке, полученную массу замораживали и лиофильно сушили. Далее высушенное сухожилие обрабатывали порциями по 4 г. При этом 4 г сухого сухожилия измельчали на кофейной мельнице и гомогенизировали в течение 1 мин в 150 мл раствора едкого натра для растворения посторонних белков. Суспензию центрифугировали и нерастворившуюся часть промывали 0,1 н. раствором ед-

кого натра. Осадок коллагена отделяли центрифугированием. Затем его суспендировали в воде, осторожно нейтрализовали 0,1 н. раствором соляной кислоты, центрифугировали и осадок коллагена промывали водой. Потом коллаген гомогенизировали в течение 5 мин в 2000 мл 0,01 н. раствора соляной кислоты. Вязкий раствор отделяли центрифугированием от нерастворившихся частиц и осторожно нейтрализовали его 0,1 н. раствором едкого натра. Выпадающие при нейтрализации тонкие хлопья коллагена отделяли центрифугированием, промывали водой до отрицательной реакции на ион хлора. Волокнистый осадок суспендировали в 5 смехах этанола (по 150 мл), дважды промывали эфиром (по 100 мл) и сушили на воздухе. Полученную массу измельчали и использовали в качестве субстрата.

Определение коллагеназной активности производили таким образом. К 20 мг коллагена добавляли 5 мл раствора испытуемого фермента в буфере и инкубировали в течение 18 ч при 37°С. Кроме опытной, ставили еще 2 контрольные пробы; первый контроль — инкубация субстрата с буферным раствором вместо раствора фермента, второй контроль — аналогичен опытной пробе, но без инкубации. По окончании инкубации пробы охлаждали в ледяной бане, фильтровали и в фильтрате определяли содержание растворимых продуктов переваривания коллагена. Для этого к фильтрату добавляли равный объем биуретового реактива и через 10 мин пробы колориметрировали с зеленым светофильтром против второго контроля. Об активности препаратов судили по величине экстинкции (*E*). Для ориентировочного перевода *E* в проценты растворенного коллагена пользовались результатами расщепления коллагена под действием бактериальных препаратов коллагеназы. Процент растворения коллагена под действием этого фермента определяли весовым методом.

Ниже показано соотношение экстинкции фильтратов и процент растворенного коллагена в результате действия на него бактериальной коллагеназы.

Экстинкция (<i>E</i>)	% растворенного коллагена
0,174	54,50
0,116	36,00
0,088	27,80
0,061	23,70
0,029	11,60

Для интенсивно окрашенных ферментных препаратов активность измеряли, определяя прирост азота в супернатанте.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Введение

1. Программа КПСС. Госполитиздат, 1964.
2. Бах А. Н. Собрание трудов по химии и биохимии. Изд-во АН СССР, 1950.
3. Опарин А. И. Задача технической биохимии в области пищевой промышленности. «Биохимия», 1959, Т. 24, № 5.
4. Смородиных И. А. Теория созревания мяса. «Мясная индустрия СССР», 1939, № 3.

Глава I

1. Amberson W. R., Whitte Y. Y., Bensuan H. B., Himmel-farb S. and Blankenhorn B. A. — protein, a new fibrous protein of skeletal muscle. American Journal of Physiology, 1957, 188, 2.
2. Dubuisson M. y. — protein — a new component of the muscle machine. Nature 1950, 166, 4235, 1116.
3. Gergely, J. Myosin — adenosinetriphosphatase, j. Biol. Chem, 1953, 200, 543—550.
4. Hasselbach W. «Die Bindung von ATP von anorganischem phosphat und Erdalkalien an die Strukturproteine des Muskels». Biochimica et Biophysica Acta, 1957, 25, 3, 562—574.
5. Helander, E. «On quantitative muscle protein determination. Sarcoplasm and Myofibrile protein content of normal and atrophic Skeletal Muscles». Asta physiologica Scandinavica, 1957, vol. 41, Suppl. 141, 1—99.
6. Huxley H. and Hanson Y. «Changes in the Cross — Striations of Muscle during Contraction and Stretch and their Structural Interpretation». Nature, 1954, vol. 173, No 4412, стр. 973—976.
7. Kominz, D. R., Hough A.; Symonds, P. and Laki K. «The Aminoacid Composition of Actin, Myosin, Tropomyosin and the Meromyosins». Archives of Biochemistry and Biophysics, 1954, 50, 1, 148—149.
8. Laki, K. «Nature of meromyosins». Science, 1958, 128, No 3325, 653.
9. Marcaud-Raebler L., Schapira G., Dreyfus Y. C. «A new muscle protein, metamyosin». Bulletin de la Société de chimie biologique, 1959, 41, 283—285, 297—313, 315—330.
10. Middlebrook, W. R. «Individuality of the Meromyosins». Science, 1959, 130, 3376, 621—622.
11. Perry, S. V. «The protein components of the isolated myofibrill. The Biochem. Journ. 1953, 55, 1, 114—122.
12. Perry, S. V. and Corsi. A. «Extraction of proteins other than myosin from the isolated rabbit myofibrill». The Biochemical Journal 1958, 68, 1, 5—12.
13. Szent-Györgyi A. «A new method for the preparation of actin» J. Biol. Chem., 1951, 192, 361.
14. Szent-Györgyi A. G. «Meromyosins, the Subunits of Myosin» Archives of Biochemistry and Biophysics, 1953, 42, 2, 305—320.

15. Villafranca G. W. «A study on the nature of the A Band of cross-striated muscles». *Archive of Biochemistry and Biophysics*, 1956, 61, 2, 378—383.
16. Ya-Pin-Lee. «S'-adenylic acid deaminase». *J. Biol. Chem.*, 1957, 227, 2, 987—1007.

Глава 2

1. Елманов Е. Ф. К вопросу о размягчении жестких частей туши крупного рогатого скота. Автореферат диссертации. М., 1963.
2. Лобанов Д. И. Технология приготовления пищи. Госторгиздат, 1938, 1951, 1960.
3. Лобанов Д. И. и Елманов С. Ф. Ускорение пищевыми кислотами гидротермического расщепления белков стромы мяса крупного рогатого скота. «Известия высших учебных заведений». Пищевая технология, 1962, № 5.
4. Лобанов Д. И. и Климова Э. О. Соединительная ткань как фактор, обуславливающий качество мяса. «Вопросы питания», 1936, № 7, 6.
5. Пальмин В. В. Физико-химические изменения мяса в процессе хранения. Труды ВНИИМП. Вып. 7. Пищепромиздат, 1955.
6. Пальмин В. В. и Боткина А. Г. Изучение химического состава мяса молодика крупного рогатого скота. Труды ВНИИМП. Вып. 5. Пищепромиздат, 1953.
7. Соловьев В. И. Нежность мяса и определяющие ее факторы. Сб. «Пищевая промышленность» (мясная и птицеперерабатывающая) ЦИНТИ-Пищепром, 1961, № 3.
8. Anonymous. «For tender beef, some say don't depend on Marbling». *Meat*, 1960, 52, 2, 42.
9. Anonymous. «Beef Tenderness inherited». *Meat and Wool*, 1961, 162, 1, 13.
10. Black W. H., Warner K. F., and Wilson C. V. Beef production quality as affected by grade of steer and feeding grain supplement on grass. U. S. Department of Agriculture, Technical Bulletin, 1931, No 217, 1—43.
11. Bouton P. E., Howard A., and Lawrie R. «Effects on weight losses and eating quality of further preslaughter treatments». Department of Scientific and Industrial Research Food investigation, 1957, Special Report No 66, part VI, 1—23.
12. Brady D. E. Proceedings 30th annual meeting of American Society of Animal Production, 1937, 30, 246—250.
13. Bull, S. and Rusk H. P. «Effect of exercise on quality of beef». Illinois Agricultural Experimental Station, 1942, Bulletin No 488, 105.
14. Cartwright T. C., Cover S., and Butler O. D. «The relationship of inheritance to tenderness of the meat of yearling steers». *Journal of Animal Science*, 1957, 16, 4, 1026.
15. Cover S. and Hostettler R. «An examination of Some theories about beef tenderness by using new methods». Texas Agricultural experimental station, 1960, Bull. No 947, 1—24.
16. Cover S., Hostettler R. L., and Ritchey S. Y. «Tenderness of Beef. IV. Relations of shear force and fiber Extensibility to juiciness and six components of tenderness». *J. of Food Science*, 1962, 27, 6, 527—536.
17. Cover S., Ritchey S. J. and Hostettler R. L. «Tenderness of Beef. I. The connective tissue component of Tenderness». *J. of Food Science*, 1962, 27, 5, 469—475.
18. Cover S., Ritchey S. Y., and Hostettler R. S. «Tenderness of Beef. II. juiciness and softness Components of Tenderness». *J. of Food Science*, 1962, 27, 5, 476—482.
19. Cover S., Ritchey S. Y., and Hostettler R. L. «Tenderness of Beef. III. The Muscle—Fiber Components of tenderness». *J. of Food Science*, 1962, 27, 5, 483—488.

20. Ginger B. and Weiz C. E. «Variations in tenderness within three muscles from beef rounds». *Food Research*, 1958, 23, 6, 662—669.
21. Hamm R. «Zur Biochemie der Fleischreifung. I. Mitteilung. Hydratation und Rigidität des Rindermuskels. Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1959, 109, 2, 113—121.
22. Hamm R. «Zur Biochemie der Fleischreifung. II. Mitteilung. Proteinladung und Muskelhydratation, Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1959, 109, 3, 227—234.
23. Hamm R. and Deatherage F. E. «Changes in hydration, Solubility and Charges of muscle proteins during heating of meat». *Food Research*, 1960, 25, 5, 587—610.
24. Hiner R. L., Hankins O. G., Sloane H. S., Fellers C. R., and Anderson E. E. «Fiber diameter in relation to tenderness of beef muscle». *Food Research*, 1953, 18, 4, 364—376.
25. Hussaini S. A., Deatherage F. E., and Kunkle L. E. «On Relation of Biochemical Factors to Changes in Tenderness». *Food Technology* 1950, 4, 9, 366—369.
26. Hussaini S. A., Deatherage F. E., Kunkle L. E., and Draudt H. N. «The biochemistry of beef as related to tenderness». *Food Technology*, 1950, 4, 8, 313—316.
27. Kamstra L. D. and Saffle R. L. «The Effect of a pre-Rigor Infusion of Sodium Hexametaphosphate on tenderness and certain chemical characteristics of meat». *Food Technology*, 1959, 13, 11, 652—655.
28. Lehmann K. B. «Studien über die Zähigkeit des Fleisches und ihre Ursachen». *Archives für Hygiene*, 1907, 63, 134.
29. Loyd E. Y. and Hiner R. L. «Relation between hydroxyproline of alkali-insoluble protein and tenderness of bovine muscles». *J. Agric Food Chem.*, 1959, 7, 12, 860—862.
30. McIntosh E. N. «Determination of macroprotein in skeletal muscle». *J. of Agric. and Food Chemistry*, 1961, 9, 6, 421—424.
31. Miller M., and Kastelic J. «Meat tenderness factors. Chemical responses of connective tissue of bovine Skeletal muscle». *J. Agric. Food Chem.*, 1956, 4, 6, 537—542.
32. Mitchell H. H., and Hamilton T. S. «Effect of long continued muscular exercise upon the chemical composition of the muscles and other tissues of beef cattle». *J. Agr. Res.*, 1933, 46, 917.
33. Prudent J. «Collagen and elastin content of four beef muscles aged varying periods of time». *Iowa State College Journal of Science*, 1948—1949, 23, 72—74.
34. Ramsbottom Y. M. and Strandine E. Y. «Comparative tenderness and identification of muscles in wholesale beef cuts». *Food Research*, 1948, 13, 4, 315—330.
35. Ramsbottom Y. M., Strandine E. Y., and Koonz C. H. «Comparative tenderness of representative beef muscles». *Food Research*, 1945, 10, 6, 497—509.
36. Ritchey S. Y. and Cover S. «Determination of Collagen in raw and cooked Beef from two muscles by alkali-insoluble, autoclave-soluble Nitrogen and by Hydroxyproline contents. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 1962, 10, 1, 40—42.
37. Ritchey S. Y., Cover S., and Hostettler R. L. «Collagen content and its Relation to Tenderness of Connective Tissue in two beef muscles». *Food Technology*, 1963, 17, 2, 76—79.
38. Satorius M. Y. and Child A. M. «Effect of coagulation on press-fluid, shear force, muscle—cell diameter and composition of beef muscle». *Food Research*, 1938, 3, 6, 619—626.
39. Steiner G. «Die postmortalen Veränderungen des Rindermuskels bei verschiedenen Temperaturengemessen an seinem mechanischen Verhalten» *Archiv für Hygiene Bakteriologie*, 1939, 121, 193—208.

40. Strandine E. Y., Koonz C. H., and Ramsbottom Y. M. «A study of variations tenderness in muscles of Beef and chicken». Journal of Animal Science, 1949, 8, 4, 483—494.
41. Wierbicki E., Cahill V. R., and Deatherage F. E. «Effects of added sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, magnesium chloride and citric acid on meat shrinkage at 70°C and of added sodium chloride on drip losses after freezing and thawing». Food Technology, 1957, 11, 2, 74—76.
42. Wilson G. D., Bray R. W., and Phillips P. H. «The effect of age and grade on the collagen and elastin content of beef and veal». Journal of animal Science, 1954, 13, 14, 826—831.
43. Winkler C. A. «Tenderness of meat: I. a recording apparatus for its estimation and relation between pH and tenderness». Canadian Journal of Research 1939, vol. 17, section D, No 1, 8—14.

Глава 5

1. Головня Р. В., Миронов Г. А., Соколов С. Ю. Химия запаха пищевых продуктов. «Успехи химии». Т. 24. Вып. 7. Изд-во АН СССР, 1964.
2. Кримберг Р. Об азотистых экстрактивных веществах мышечной ткани. Диссертация на степень доктора медицины. М., 1907.
3. Лобанов Д. И. и Вольфсон Т. Образование меланоидинов в процессе приготовления мяса и их влияние на желудочную секрецию. Nahrung, 1958, T. 2, № 7, 660—668.
4. Соловьев В. И., Пиульская В. И., Боткина А. Г., Михайлова Е. Н. Созревание мяса крупного рогатого скота. Труды ВНИИМП, Вып. 5. Пищепромиздат, 1953.
5. Соловьев В. И., Гофунг Г. И., Власов А. П., Гафурова Ц. А. Производство глутаминовой кислоты из рокопного сырья. Сб. Пищевая промышленность (мясная и перерабатывающая). ЦИТИПищепром, 1961, № 2.
6. Barbella N. G., Tannor B., and Johnson T. G. «Relationship of flavor and juiciness of beef to fatness and other factors». Proceeding American Society of the Animal Production, 32th Annual Meeting, 1939, 320.
7. Batzer O. F., Santoro A. T., Tan M. C., Landmann W. A. and Schweigert B. S. «Precursors of beef flavor». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1960, 8, 6, 498—501.
8. Batzer O. F., Santoro A. T., and Landmann W. A. «Beef flavor. Identification of some Beef Flavor precursors». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1962, 10, 2, 94—96.
9. Bouthilet R. J. «Chicken flavor: Separation and concentration of its volatile components from broth». Food Research, 1950, 15, 4, 322—325.
10. Bouthilet R. J. «Chicken flavor: The separation of the volatile constituents». Food Research, 1951, 16, 2, 137—141.
11. Bouthilet R. J. «Chicken flavor: The source of the meat flavor Components». Food Research, 1951, 16, 3, 201—204.
12. Bouton P. E., Howard A. and Lawrie R. «Studies on beef quality, Effects of weight losses and eating quality of further preslaughter treatments». Department of Scientific and Industrial Research Food Investigation, 1957, part. 6, 1—23.
13. Chang S. S. and Kummerow F. A. «A study of the flavor Stability and autooxidation of beef fats». Journal of American Oil Chemists Society 1955, 32, 11, 547—551.
14. Crocker E. C. «Flavor of meat». Food Research, 1948, 15, 3, 179—185.
15. Heintze K. und Braun F. «Beziehungen zwischen der geschmacklichen Wahrnehmung von Glutamat und dem pH-Wert». Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 1958, 54, 2, 25—28.

16. Hewitt E. I., Mackey D. A. and Lewin S. Z. «Physicochemical Approaches to the study of flavors». Flavor Research and Food Acceptance, 1958, 262—289, Evans Research Development Corporation New—York.
17. Hornstein I., Crowe P. F., and Sulzbacher W. L. «Constituent of meat flavor: beef». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1960, 8, 1, 65—67.
18. Hornstein I., and Crowe P. F. «Flavor Studies of beef and Pork». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1960, 8, 6, 494—498.
19. Jueh M. H. and Strong F. M. «Some volatile constituents of cooked Beef». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1960, 8, 6, 491—494.
20. Kramlich W. E. and Pearson A. M. «Some preliminary studies on meat flavor». Food Research, 1958, 23, 6, 567—574.
21. Kramlich W. E. and Pearson A. M. «Separation and Identification of cooked beef flavor components». Food Research, 1960, 25, 6, 712—719.
22. May C. C. «Flavoring Substances and their preparations». Brit. patent No 858333 11—01—1961.
23. May C. C., Morton I. D. «Flavoring Substances and their preparations». Brit. patent No 858660, 11—01—1961.
24. Merrit C., Bressnick S. R., Bazinet M. L., Walsh I. T., Angelini P. «Determination of volatile Components of foodstuffs. I. Techniques and some preliminary studies on irradiated beef». Research Report Analytical chemistry ser. 9, Headquarters. Q—M. Research and Engineering Commands, Natick, Mass., 1958.
25. Nelson P. M., Lowe B. and Helser M. D. «Influence of the animal's age upon the quality and palatability of beef. II. The roast beef, preparation, quality and palatability». Iowa Agricult. Exp. Station, Bull. No 272.
26. Oro I. F., Guidry C. L., and Zlatkis A. «Properties of Methionals». Food Research, 1959, 24, 2, 240—241.
27. Patton S. «The Broth—Like Flavor of Methionals». Food Technology, 1956, 10, 1, 60.
28. Patton S. and Barnes I. J. «The odor and flavor of methionals». Food Research 1958, 23, 2, 221—223.
29. Patton S., Barnes I. J., and Evans I. E. «n—Deca—2,4 Dienal, its origin from Linoleate and Flavor Significance in Fats». The journal of the American Oil Chemists Society, 1959, 36, 7, 280—283.
30. Peterson D. W., Simone M., Lilyblade A. L., and Martin R. «Some Factors Affecting Intensity of Flavor and Toughness of chicken muscles». Food Technology, 1959, 13, 3, 204—207.
31. Phippen E. L., Campbell A. A., and Streeter I. V. «Origin of chicken flavor». Journal of Agricultural and Food chemistry, 1954, 2, 7, 364—367.
32. Phippen E. L., and Eyring E. I. «Characterization of volatile Nitrogen and volatile Sulfur Fractions of cooked chicken and their relation to flavor». Food Technology, 1957, 11, 1, 53—56.
33. Phippen E. L., Nonaka M., Jones E. T., and Stitt F. «Volatile carbonyl compounds of cooked chicken. I. Compounds obtained by air entrainment». Food Research, 1958, 23, 1, 103—113.
34. Phippen E. L., and Nonaka M. «Volatile carbonyl compounds of cooked chicken. II. Compounds volatilized with steam during cooking». Food Research, 1960, 25, 6, 764—769.
35. Swift C. E., O'Connor R. T., Brown L. E., and Dellea F. G. The aldehydes produced during the autooxidation of cottonseed oil. Journal of the American Oil Chemists Society, 1949, 26, 6, 297—300.
36. Titus D. S., and Klis I. B. «Product improvement with new flavor enhancers». Food Processing, 1963, 24, 128—129 u 150—151.

1. Адуцкевич В. А. Определение созревания мяса гистологическим методом. Сб. Пищевая промышленность (мясная и птицеперерабатывающая). ЦИНТИПищепром, 1955, № 10.
2. Гиляев В. П. К вопросу о тонком строении поперечнополосатого мышечного волокна (электронно-микроскопическое исследование скелетной мышцы околотля). «Успехи современной биологии», 1956, Т. 41, № 1.
3. Гиляев В. П. Изменение структуры саркомера в процессе сокращения поперечно-полосатого мышечного волокна. «Биофизика», 1961, Т. 6, № 6.
4. Заварзин А. А. и Изелкунов С. И. Руководство по гистологии. Медгиз, 1954.
5. Зайдес А. Л. Структура коллагена, его видовые особенности. «Биофизика», 1956, Т. 1, № 3.
6. Соколов А. А., Большаков А. С., Фомин А. К. «Эль-Дашлуты М. С. К вопросу о гистологических изменениях мяса. Доклад на IX Европейском конгрессе работников НИИ мясной промышленности, 1963.
7. Соловьев В. И. К вопросу о химизме процессов, обуславливающих улучшение консистенции мяса при его созревании и обработке протеолитическими ферментами. VIII Европейский конгресс работников НИИ мясной промышленности, № 24, М. 1962.
8. Соловьев В. И., Адуцкевич В. А., Кузнецова Г. Н., Волкова А. Г., Щеголева О. П., Агалава З. А., Аглицкая А. В., Кракова В. З. Исследование в области созревания мяса. Труды ВНИИПа. Вып. 14. Пищепромиздат, 1962.
9. Соловьев В. И., Адуцкевич В. А. Химизм и морфология созревания мяса. Сб. «Однофазное» замораживание мяса. Тезисы докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности. М., 1962.
10. Студитский А. Н. Экспериментальная хирургия мышц. Изд-во АН СССР, 1959.
11. Carrey E. J. «Wave Mechanics in Striated Muscle. 14. Effects of experimental variations in temperature and microcapillarity on the cross striations in muscles». Archives Pathology. 30, 5, 1940, 1041—1072.
12. Dettmer N. «Entwicklung und Probleme electronenmikroskopischer Bindegewebforschung». Aertzliche Wochenschrift, 1955, 10, 31, 708—713.
13. Hall C. E., Jakus M. A. and Schmitt F. O. «Investigation of cross striations and myosin filaments in muscles». Biological Bull. 1946, 90, 1, 32—50.
14. Heidenhain M. «Plasma und Zelle. Eine allgemeine Anatomie der lebendigen Masse. 2. Zif. Die kontraktile Substanz, die nervöse Substanz, die Fedengerüstlehre und ihre Objekte». Fischer, Jena, 1911.
15. Huxley H. E., Hanson I. «The Structure and Function of Muscle 1». Acad. Press., N. Y., a Lond., 1960.
16. Locker R. H. «Striation patterns of ox muscle in rigor mortis». Journal for biophysical and biochemical cytology, 1959, 6, 3, 419—421.
17. Paul P., Lowe B., McClurg B. «Changes in histological structure and palatability of beef during storage». Food Research, 1944, 9, 3, 221—233.
18. Perry S. V. «Relation between chemical and contractile function and structure of the skeletal muscle cell». Physiological Reviews 36, 1, 1—76, 1956.
19. Strandine E. L., Koonz C. H. and Ramsbottom I. M. A study of variations tenderness in muscles of beef and chicken. Journal of Animal Science, 1949, 8, 4, 483—494.
20. Wang H. and Maynard N. «Studies on enzymatic tenderization of meat. I. Basic technique and histological observations of enzymatic action». Food Research, 1955, 20, 6, 587—597.

21. Wang, H., Weir, C. E., Birkner, M., Ginger, B. «The influence of enzymatic tenderizers on the structure and tenderness of beef». Proc. Ninth Research Conference, American Meat Institute, 1957, 69.
22. Weir C. E., Wang H., Birkner, M. L., Parsons, J. and Ginger, B. «Studies on enzymatic tenderization of meat. II. Panel and histological analysis of meat treated with liquid tenderizers containing papain». Food, Research, 1958, 23, 6, 411—422.
23. Zender L., Lataste-Leorolle C., Collet R. A., Rowinski P. and Mouton R. F. «Aseptic autolysis of muscle: biochemical and microscopical modifications occurring in rabbit and lamb muscle during aseptic and anaerobic storage». Food Research, 1958, 23, 3, 305—326.

Глава 5

1. Головкин Н. А. Физические и биохимические изменения в мясе во время его охлаждения и хранения. Послужное повышение температуры мяса. Труды Ленинградского технологического института холодильной промышленности, № 5, 1954.
2. Головкин Н. А. и Першина Л. И. О роли аденозинтрифосфорной кислоты при холодильной обработке и хранении рыбы. «Рыбное хозяйство», 1957, № 9.
3. Головкин Н. А. и Першина Л. И. «Посмертные механо-химические изменения и их роль при консервировании рыбы холодом. Труды научно-исследовательского института механизации рыбной промышленности, 1961, № 1, 2, 3.
4. Головкин Н. А. и Шаган О. С. Изменение механо-химических свойств мышечной ткани при холодильной обработке мяса. «Холодильная техника», 1958, № 6.
5. Головкин Н. А. и Шаган О. С. «Механо-химия мышечной ткани при холодильной обработке мяса». «Однофазное замораживание мяса». Тезисы докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности. М., 1962.
6. Данилов М. М. Применение УФЛ для повышения стойкости при хранении мяса и колбасных изделий в свежем состоянии. Юбилейный сборник научных трудов Ленинградского института Советской торговли, Госторгиздат, 1950.
7. Дроздов Н. С. и Журавская Н. К. О природе автолитического распада мышечного гликогена в процессе созревания мяса. Труды МТИИМПа. Вып. 2. Пищепромиздат, 1954.
8. Дроздов Н. С. и Янушкин Н. П. Влияние температуры замораживания на свойства размороженного мяса. «Мясная индустрия СССР», 1954, № 6.
9. Дуда З. Влияние некоторых технологических факторов на начальные стадии автолиза мышечной ткани свинного мяса. Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук. М., 1959.
10. Курдюмов П. О созревании баранины. «Хранительная промышленность». Болгария, 1961, Т. 10, № 5.
11. Любимова М. Н. и Энгельгардт В. А. Аденозинтрифосфатаза и миозин мышцы. «Биохимия», 1939, Т. 4, № 6.
12. Любимова М. Н. Ферментные свойства миозина поперечно-полосатых мышц. Автореферат диссертации. М., 1957.
13. Павловский П. Е. Автолитические превращения гликогена при охлаждении и замораживании мышечной ткани. «Биохимия», 1956, Т. 5, № 21.
14. Павловский П. Е. Автолитические изменения в измененной мышечной ткани. «Мясная индустрия СССР», 1957, № 2.
15. Павловский П. Е. Сравнительная характеристика автолитических и денатурационных изменений при замораживании парного и предварительно охлажденного мяса. Сб. «Однофазное замораживание мяса». Тезисы

докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности. М., 1962.

16. Павловский П. Е. Превращения белковых компонентов аутолизующей мышечной ткани при охлаждении и замораживании мяса. «Известия высших учебных заведений». Пищевая технология, 1962, № 5.
17. Пальмин В. В. Физико-химические изменения мяса в процессе хранения. Труды ВНИИМПа. Вып. 7. Пищепромиздат, 1955.
18. Петрова А. Н. Амиллаза мышц. «Биохимия», 1946, Т. 11, № 2.
19. Петрова А. Н. и Лебедева М. Б. Изучение процессов амилолиза и фосфорилаза гликогена в мышцах. «Биохимия», 1950, Т. 15, № 3.
20. Сморodinцев И. А. и Лясковская Ю. Н. «La changement de Solubilité des composés de calcium en cas d'autolyse du tissu musculaire. Bulletin de la Société de chimie biologique, 1935, 17, 12, 1814—1821.
21. Сморodinцев И. А. и Филиппова А. А. Динамика безазотистых экстрактивных веществ при аутолизе мышечной ткани. «Архив биологических наук», 1935, Т. 37, № 2.
22. Сморodinцев И. А., Крылова Н. И., Пассонина В. И. Изменение белковых фракций при созревании мяса. ДАН СССР, новая серия, 1937, № 15.
23. Сморodinцев И. А. Теория созревания мяса. «Мясная индустрия СССР», 1939, № 3.
24. Соловьев В. И., Пиульская В. Новые данные о созревании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1951, № 4.
25. Соловьев В. И. Биохимические процессы, протекающие при созревании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1952, № 2.
26. Шаган О. Обратимость процесса при размораживании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1957, № 6.
27. Шеффер А. Л., Саатчян А. К., Соловьев В. И., Адукевич В. А., Калита Л. А. Исследования и разработка технологии и техники быстрого замораживания мяса без предварительного охлаждения (однофазным методом). Сб. «Однофазное замораживание мяса». Тезисы докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности. М., 1962.
28. Энгельсгардт В. А. «Adenosinetriphosphatase properties of myosin. Advances in enzymology, 1946, 6, 187—190.
29. Энгельсгардт В. А. и Любимова М. Н. К механике мышечной. «Биохимия», 1942, Т. 7, № 5—6.
30. Bailey K. «The purity of Adenosinetriphosphate preparations by Enzymic Degradation». The Biochemical journal, 1948, 42, 4, 1viii.
31. Balenovic K. «Über das atomyosin des Kaninchenmuskels». Studies from the Institute of medical chemistry University Szeged 1942, 2, 17—24.
32. Bate-Smith E. C. «The effect of fatigue on post-mortem changes in muscles». Annual Report of the food investigation board, 1936, p. 21—25. London, 1937.
33. Bate-Smith E. C. «Changes in elasticity of mammalian muscle undergoing rigor mortis». The journal of physiology, 1939, 96, 2, 176—193.
34. Bate-Smith E. C. and Bendall I. R. «Rigor mortis and adenosine triphosphate». The journal of Physiology, 1947, 106, 2, 177—185.
35. Bate-Smith E. C. «The physiology and chemistry of rigor mortis with special reference to the aging of beef». Advances in food research, 1948, 1, 1—34.
36. Bate-Smith E. C. and Bendall I. R. «Factors determining the time course of rigor mortis». The journal of physiology, 1949, 110, 1—2, 47—65.
37. Bate-Smith E. C. and Bendall I. R. «Changes in muscle after death». British medical bulletin, 1956, 12, 230—235.
38. Bendall I. R. «The shortening of rabbit muscles during rigor mortis: its relation to the breakdown of adenosinetriphosphate and creatine

phosphate and to muscular contraction». The journal of physiology, 1951, 114, 1—2, 71—88.

39. Bendall I. R. «Effect of the 'Marsh' factor» on the Shortening of muscle fiber models in the presence of adenosine triphosphates. Nature, 1952, 170, 4338, 1058—1060.
40. Bendall I. R. «Further observations on a factor (the Marsh factor) effecting relaxation of ATP-shortened muscle—fiber models and the effect of Ca and Mg ions upon it». The journal of Physiology, 1953, 121, 2, 232—254.
41. Bendall I. R., Hallund O., and Wismer-Pedersen I. «Post-mortem changes in the muscles of Landrace pigs». Journal of Food Science, 1963, 28, 2, 156—162.
42. Bendall I. R. and Marsh B. B. «The biochemistry of muscular tissue in relation to loss of drip during freezing». Proc. 8th Internat. Congress Refrig., 1961, London, 351.
43. Callow E. H. «The after effects of fasting» Annual report of the food investigation Board, 1938, 54—55, London, 1939.
44. Embden G. and Habs H. «Über chemische und biologische Veränderungen der Muskulatur nach öfters wiederholter faradischer Reinigung». Zeitschr. für physiologische Chemie, 1927, 171, comp. 16—39.
45. Erdos T. «Rigor, contracture and ATP». Studies from the Institute of medical chemistry University Szeged, 1943, 111, 51—56.
46. de Fremery D. and Pool M. F. «Biochemistry of chicken muscle as related to rigor mortis and tenderization». Food Research, 1960, 25, 1, 73—87.
47. Fujimaki M., Arakawa M., and Joneta H. «Chemical studies on actin. Part I. On the changes of Bindings of Actin to Alkaline Earth Metals during Aging of Meats». Bulletin of the Agricultural chemical Society of Japan, 1960, 24, 4, Suppl., 333—337.
48. Hamm R. «Adenosinetriphosphoric acid and its importance for meat quality. Function of adenosinetriphosphoric acid in post-mortem changes in muscles». Fleischwirtschaft, 1958, 10, 2, 80—83.
49. Hamm R. «Zur Biochemie der Fleischreifung. I Mitteilung. Hydratation und Rigidität des Rindermuskels». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung 1959, 109, 2, 113—121.
50. Hanson H. L., Stewart G. F. and Lowe B. «Palatability and histological changes occurring in New York dressed broilers held at 1, 7°C». Food Research, 1942, 7, 2, 148—160.
51. Hasselbach W. «Die Bindung von ATP von anorganischem Phosphat und Erdalkalien an die Strukturproteine des Muskels». Biochimica et Biophysica Acta, 1957, 25, 3, 562—574.
52. Howard A. and Lawrie R. A. «Studies on beef quality. II. Physiological and biological effects of various pre-slaughter treatments». C.S.I.R.O., Div. Food Preserv., Transp. 1956, Tech. Paper 2, 18.
53. Howard A. and Lawrie R. A. «Studies on beef quality. V. Further observations on biochemical and physiological responses to pre-slaughter treatments». C. S. I. R. O., Div. Food Preserv., Transp., 1957, Tech. Paper 4, 1.
54. Lawrie R. A. «The onset of rigor mortis in various muscles of the draught horse». The journal of physiology, 1953, 121, 275—288.
55. Lawrie R. A. «Residual glycogen at high ultimate pH in horse muscle». Biochimica et Biophysica Acta, 1955, 17, 2, 282—288.
56. Lawrie R. A., Manners D. I. and Wright A. «Glycogen structure and rigor mortis in mammalian muscles». The Biochemical journal, 1959, 73, 3, 485—490.
57. Lipmann F. «Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy». Advances in Enzymology, 1941, 1, 99—162.
58. Lowe B. «Experimental cookery», 44th ed., 1955, New York.
59. Madsen I. «Investigations on the Keeping quality of pork from animals which have fed containing sugars». Nord Jordbrugs-forskning, 1943, 5—6, 340.

60. Madsen I. «Investigations on the Keeping quality of pork from animals which have been fed containing sugar». Chem. Zentralblatt, 1944, 1, 1939.
61. Marsh B. B. «A factor modifying muscle fiber syneresis». Nature, 1951, 167, 4261, 1065—1066.
62. Marsh B. B. «Observations on rigor mortis in whale muscle». Biochimica et Biophysica Acta, 1952, 9, 2, 127—132.
63. Marsh B. B. «Rigor mortis of beef». Journal of the Science of food and agriculture, London, 1954, 5, 2, 70—75.
64. Marsh B. B., and Tompson I. F. «Thaw rigor and the delta state of muscle». Biochimica et Biophysica Acta, 1957, 24, 2, 427—428.
65. Marsh B. B. and Tompson I. F. «Rigor mortis and thaw Rigor in lamb». Journal of the Science of Food and Agriculture, 1958, 9, 7, 417—424.
66. Mitchell H. H. and Hamilton T. S. «The effect of long continued muscular exercise upon the chemical composition of the muscles and other tissues of beef cattle». Journal of agricultural research, 1933, 46, 10, 917—941.
67. Moran T. and Smith E. C. «Post—Mortem Changes in animal tissues, the conditioning or ripening of beef». Department of the Science and Industrial Research. Food Investigation Board, 1929, Special Report No 36, 1.
68. Parker C. I. and Gergely I. «Soluble relaxing factor from muscle». Journal of Biological chemistry, 1960, 235, 12 3449—3453.
69. Partmann W. «Post—Mortem Changes in chilled and Frozen Muscle». Journal of Food Science, 1963, 28, 1, 15—27.
70. Paul P., Lowe B., and McClurg B. R. «Changes in histological structure and palatability of beef during storages». Food Research, 1944, 9, 3, 221—233.
71. Perry S. V. «Studies on the rigor resulting from the thawing of frozen frog sartorius muscle». The journal of general Physiology, 1950, 33, 5, 563—577.
72. Procter H. A. and Best C. H. «Changes in muscle glycogen accompanying physical training». American journal of physiology, 1932, 100, 3, 506—510.
73. Sharp I. G. and Marsh B. B. «Whale meat. Production and Preservation». D. S. I. R., Food Investigation, 1953, Special report 58, 1—47.
74. Szent-Gyorgyi A. «О мышечной деятельности». Москва, Медгиз, 1947.
75. Szent-Gyorgyi A. «Free—energy relations and contraction of actomyosin». Biol. Bulletin, 1949, 96, 140—161.
76. Tanaka T. and Tanaka K. «Studies of the «drip» from frozen whale meat. Biochemical Condition of whalemeat prior to freezing and cold storage of frozen meats. Contribution to 9th Intern. Congress of Refrig. 1955, Paris.
77. Whitaker I. R. «Chemical changes associated with aging of meat with emphasis on the proteins». Advances in food research, 1959, 9, 1—60.
78. Воловнистая В. П. и Кельман Б. Я. Разработка метода определения влагопоглощаемости мяса. Труды ВНИИМП. Вып. 11. Пищепроизд., 1962.
79. Головкин Н. Изменения мяса охлажденного различными способами, при хранении. «Мясная индустрия СССР», 1939, № 2.
80. Головкин Н. А. Физические и биохимические изменения в мясе во время его охлаждения и хранения. Послеубойное повышение температуры. Труды Ленинградского Технологического института холодильной промышленности. 1954, № 5.
81. Головкин Н. А. Физические и биохимические процессы в мясе во время его охлаждения и хранения. Труды Ленинградского Технологического института холодильной промышленности, 1956, № 14.
82. Головкин Н. А. и Першина Л. И. Посмертные механо-химические изменения и их роль при консервировании рыбы холодом. Труды научно-исследовательского института механизации рыбной промышленности ВНИРО, 1961, № 1, 2.
83. Головкин Н. А. и Шаган О. С. Механо-химия мышечной ткани при холодильной обработке мяса. Сб. «Однофазное замораживание мяса». Тезисы докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности. М., 1962.
84. Головкин Н. А. и Ноздринков И. Р. Определение и роль катионов Са и Mg при холодильной обработке и хранения мяса. «Известия высших учебных заведений». Пищевая технология, 1964, № 2.
85. Гордзиевский Л. О. Роль аленозитрифосфорной кислоты в сокращении мышц охлажденного и мороженого мяса. «Мясная индустрия СССР», 1961, № 3.
86. Гордзиевский Л. Н., Бабин Ф. П. Автолитические процессы при замораживании и хранении замороженного мяса. Сб. «Однофазное замораживание мяса». Тезисы докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности. М., 1962.
87. Данилов М. М. Применение УФЛ для повышения стойкости при хранения мяса и колбасных изделий в свежем состоянии. Юбилейный сборник научных трудов Ленинградского института Советской торговли. Госторгиздат, 1950.
88. Дроздов Н. С., Минковская В. Л. и Дрейлинг Н. П. О белковых веществах водного экстракта скелетных мышц. Труды кафедр биохимии Московского зоотехнического института коневодства за 1945 год. М., 1947.
89. Кримберг Р. Об азотистых экстрактивных веществах мышечной ткани. Диссертация на степень доктора медицины. М., 1907.
90. Кузнецова Г. Н. Исследование липидности компонентов соединительной ткани при созревании мяса и обработке его протеолитическими ферментами. Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук. М., 1964.
91. Лазарев Е. Н. Физико-химические процессы при хранении охлажденного мяса в полутушах и мелких отрубях. Автореферат кандидатской диссертации. Л., 1955.
92. Лазарев Е. Н. Ферментативный гидролиз мышечной ткани. Сборник научных работ Ленинградского института Советской торговли им. Энгельса. Госторгиздат, 1955.
93. Лобанов Д. И. и Климова Э. О. Соединительная ткань как фактор, обуславливающий качество мяса. «Вопросы Питания», 1938, № 7, 6.
94. Любимов М. Н. и Энгельсгардт В. А. Аленозитрифосфатаза и миозин мышц. «Биохимия», 1939, № 4, 6.
95. Манербергер А. А. и Миркин Е. Ю. Технология мяса и мясопродуктов. Пищепроизд., 1949.
96. О'Лазерти Ф., Родди В. Т., Лоллер Р. М. Химия и технология кожи. Изд-во научно-технической литературы РСФСР. М., 1960. Т. 1.

Глава 6

1. Арутюнян Л. А. Влияние мяса разной степени созревания на секреторную и двигательную функцию желудка. «Вопросы питания», 1954, № 2.
2. Астаин П. П. Биохимия. Сельхозгиз, 1933.
3. Бабин Ф. П., Лазарев Е. Н. Изменения в охлажденном и мороженом мясе при длительном хранении. «Холодильная техника», 1960, № 2.
4. Василевски С. Электрофторесцентные исследования изменений саркоплазматических белков свиного мяса при разных условиях его хранения. Автореферат кандидатской диссертации. М., 1960.
5. Введенский Б. И. Сравнительная качественная оценка частей говяжьей туши. «Мясная индустрия СССР», 1933, № 2, и № 3.
6. Введенский Б. И. Мясо в тушах и отрубях. Пищепроизд., 1939.

26. Павловский П. Е. Автотитические и денатурационные изменения компонентов мышечной ткани при охлаждении и замораживании мяса. «Известия Высшей школы СССР». Пищевая технология, 1962, № 5.
27. Павловский П. Е. Сравнительная характеристика автотитических и денатурационных изменений при замораживании парного и предварительно охлажденного мяса. Сб. «Однофазное замораживание мяса». Тезисы докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности. М., 1962.
28. Пальмин В. В. О возможности изготовления вареной колбасы ускоренным способом. «Мясная индустрия СССР», 1952, № 4.
29. Пальмин В. В. Физико-химические изменения мяса в процессе хранения. Труды ВНИИМП. Вып. 7. Пищепромиздат, 1955.
30. Пальмин В. В. и Алексина Л. Г. Изучение свойств миозина мышечной ткани, облученной Co^{60} «Радиобиология», 1961, № 1, 2.
31. Пальмин В. В. Изменение тиоловых соединений автолизующей мышечной ткани при γ -облучении Co^{60} . Труды пятого международного биохимического конгресса. Рефераты секционных сообщений. Секции 1—13. Разд. 8. Промышленная биохимия. М., 1962.
32. Пальмин В. В. Изменение свойств азотистых соединений при γ -облучении говяжьего мяса. Доклад № 19 на VIII Европейском Конгрессе работников научно-исследовательских институтов мясной промышленности. М., 1962.
33. Пальмин В. В. Биохимические изменения при консервировании мяса γ -облучением. Сб. Пищевая промышленность (мясная и птицеперерабатывающая). ЦИТИПищепром, 1963, № 2.
34. Пальмин В. В. Лучевая стерилизация мяса и автолиз. «Консервная и овощешипельная промышленность», 1964, № 5.
35. Першина Л. И. Роль и значение механо-химических процессов в изменении качественных свойств рыбы при холодильной обработке и хранении. Автореферат кандидатской диссертации. Л., 1961.
36. Реферат статьи из «National Provisioner» за 1936 г. Созревание мяса в течение пяти дней». «Мясная индустрия СССР», 1936, № 8.
37. Реферат статьи из «National Provisioner» за 1936 г. Созревание мяса. «Мясная индустрия СССР», 1937, № 2.
38. Рейнш А. Мясо и мясные продукты как предмет питания в промышленности. «Холодильное и боевое дело», 1925.
39. Рогачев В. И., Фрумкин М. Л., Павлова Г. Л. и Дозорец Д. П. Биохимические изменения в мясе при облучении и последующем хранении. «Консервная и овощешипельная промышленность», 1960, № 6.
40. Сент-Джорджи А. О мышечной деятельности. Медгиз, 1947.
41. Сморodinцев И. А., Широков Н. В., Крылова Н. Н., Филиппова Л. А. и Цыганова П. А. Химические и физико-химические изменения при созревании мяса. Труды ВНИИМП. Вып. 2. Пищепромиздат, 1933.
42. Сморodinцев И. А. и Крылова Н. Н. «Sur la question de la teneur en albumoses et en peptones dans le muscle du gros bœuf a corne». Bulletin de la société de chimie biologique, 1935, 17, 7—8, 1149—1156.
43. Сморodinцев И. А. и Лясковская Ю. Н. «Le changement de solubilité des composés de calcium en cas d'autolyse du tissu musculaire». Bulletin de la société de chimie biologique, 1935, 17, 12, 1814—1821.
44. Сморodinцев И. А. и Филиппова Л. А. Динамика безазотистых экстрактивных веществ при автолизе мышечной ткани. «Архив биологических наук», 1936, т. 37, № 2.
45. Сморodinцев И. А. Современное положение вопроса об автолизе животных тканей. «Успехи химии», 1935, № 4.
46. Сморodinцев И. А. и Николаева Н. В. Изменение катепсина при автолизе мышечной ткани. ДАН СССР. Новая серия, 1936, № 12.
47. Сморodinцев И. А. Созревание мяса. «Український біохімічний журнал», 1936, Т. 9, № 3.
48. Сморodinцев И. А. Частная биохимия. Пищепромиздат, 1936.
49. Сморodinцев И. А. и Лясковская Ю. Н. «Changement de solubilité des composés de sodium dans l'autolyse du tissu musculaire». Bulletin de la Société de chimie biologique, 1936, 18, 4, 741—746.
50. Сморodinцев И. А., Волферц В. Ю., Крылова Н. Н., Николаева Н. В., Лясковская Ю. Н. и Пассонина В. И. Установление связи между органолептическими, физико-химическими и химическими признаками зрелого мяса. «Український біохімічний журнал», 1937, 10, № 1.
51. Сморodinцев И. А., Крылова Н. Н. и Пассонина В. И. Изменение белковых фракций при созревании мяса. ДАН СССР, новая серия, 1937, Т. 15, № 1.
52. Сморodinцев И. А. Теория созревания мяса. «Мясная индустрия СССР», 1939, № 3.
53. Сморodinцев И. А., Николаева Н. В. Изменение активности пептидазы при автолизе мышечной ткани. ДАН СССР. Новая серия, 1942, Т. 34, № 8.
54. Сморodinцев И. А. и Николаева Н. В. Изменение активности триптазы при автолизе мышечной ткани. ДАН СССР. Новая серия, 1943, Т. 40, № 4.
55. Соколов А. А. О созревании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1951, № 2, 14—17.
56. Соколов А. А., Павлов Д. В., Большаков А. С., Журавская Н. К., Шопенский Д. П. и Диклов Э. П. Технология мяса и мясopодуктов. Пищепромиздат, 1960.
57. Соколов А. А. и Эль-Дашлуты М. С. Влияние посмертных изменений мяса на его прочностные свойства. «Мясная индустрия СССР», 1963, № 4.
58. Соколов А. А., Большаков А. С., Фомин А. К. и Эль-Дашлуты М. С. К вопросу об автотитических изменениях мяса. Доклад на IX Европейском конгрессе работников научно-исследовательских учреждений мясной промышленности. Будапешт, 1963.
59. Соловьев В. И. и Пиульская В. И. Новые данные о созревании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1951, № 4.
60. Соловьев В. И. Биохимические процессы, протекающие при созревании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1952, № 2.
61. Соловьев В. И., Пиульская В. И., Боткина А. Г. и Михайлова Е. Н. Созревание мяса крупного рогатого скота. Труды ВНИИМП. Вып. 5. Пищепромиздат, 1953.
62. Соловьев В. И. и Смелова З. А. О вкусе и аромате пищевых белковых гидролизатов. Труды ВНИИМП. Вып. 9. Пищепромиздат, 1959.
63. Соловьев В. И., Адуцкевич В. А., Кузнецова Г. Н., Волкова А. Г., Шеголева О. П., Агапова З. А., Аглицкая А. В. и Кракова В. З. Исследования в области созревания мяса. Труды ВНИИМП. Вып. 14. Пищепромиздат, 1962.
64. Соловьев В. И. и Адуцкевич В. А. Химизм и морфология созревания мяса. Сб. «Однофазное замораживание мяса». Тезисы докладов на Всесоюзном научно-техническом совещании работников мясной промышленности, 1962.
65. Соловьев В. И., Аглицкая А. В., Кулик Я. и Барер Т. Ферментация мяса как способ улучшения его качества. «Мясная индустрия СССР», 1962, № 4.
66. Соловьев В. И. К вопросу о химизме процессов, обуславливающих улучшение консистенции мяса при его созревании и обработке протеолитическими ферментами. Доклад № 24 на VIII Европейском конгрессе работников научно-исследовательских учреждений мясной промышленности. М., 1962.
67. Соловьев В. И. и Кузнецова Г. Н. Изменение соединительной ткани в процессе созревания мяса. «Мясная индустрия СССР», 1963, № 1.

68. Соловьев В. И. и Шеголева О. П. Изменение белковой системы мяса в процессе его созревания. Труды ВНИИМП, Вып. 16. Пищепромиздат, 1964.
69. Соловьев В. И. и Кузнецова Г. Н. Исследование лабильности основного вещества внутримышечной соединительной ткани в процессе хранения мяса при низких плюсовых температурах. Труды ВНИИМП. Вып. 16. Пищепромиздат, 1964.
70. Соловьев В. И., Шеголева О. П. и Агапова З. А. О начальной стадии протеолиза белков фракции миозина, происходящего в процессе созревания мяса. «Биохимия», 1964, Т. 29, № 3.
71. Соловьев В. И., Агапова З. А. и Пальмин В. В. Изменение белков фракции миозина в процессе автолиза при хранении облученной мышечной ткани. «Прикладная биохимия и микробиология», 1965.
72. Фердман Д. Л., Фрейкель С. А. и Силакова А. И. Глютамин в тканях животного организма. «Биохимия», 1942, Т. 7, № 1—2.
73. Фомин А. К. Исследование влияния глубины автолиза свинины на качество соленых изделий. Автореферат кандидатской диссертации. М., 1963.
74. Фрумкин М. Л., Павлова Г. Л. и Дозорев Д. П. Изменение протеолитической активности облученного мяса при хранении и при тепловой обработке. Доклад № 22 на VIII Европейском Конгрессе работников научно-исследовательских институтов мясной промышленности. М., 1962.
75. Шестаков С. Д. Итенсивность автолитических процессов в мышцах обескороленных и необескороленных. Доклад № 18 на VIII Европейском Конгрессе работников научно-исследовательских институтов мясной промышленности. М., 1962.
76. Широков Н. В., Смелова З. А. и Шеголева О. П. Химический состав субпродуктов крупного рогатого скота средней упитанности. Труды ВНИИМП. Вып. 5. Пищепромиздат, 1953.
77. Эль-Дашлуты М. С. Автолитические изменения баранины в период хранения при низких плюсовых температурах. Автореферат кандидатской диссертации. М., 1963.
78. Энгельгардт В. А. и Любимова-М. Н. Механо-химия мышц. «Биохимия», 1942, Т. 7, № 5—6.
79. Agran G. «Purification of aminopolypeptidase from cattle muscle». Acta Physiologica Scandinavica, 1944, 8, 369—376.
80. Alexander A. E. and Johnson P. Colloid Science, 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford, 1950.
81. Arnold N., Wierbicki E., and Deatherage F. E. «Post Mortem Changes in the interactions of Cations and Proteins of beef and their relation to sex and diethylstilbestrol treatment». Food Technology, 1956, 10, 6, 245—250.
82. Balls A. K. «Enzyme Action in food products at low temperatures». Ice and Cold storage, 1938, 41, 485, cmp. 143.
83. Bandack—Juri S., and Rose D. «Proteases of chicken breast muscle». Food Technology, 1961, 15, 4, 186—188.
84. Bate-Smith E. C. «The buffering of muscle in rigor: protein, phosphate and carnosine». The Journal of Physiology, 1938, 92, 336—343.
85. Bate-Smith E. C. «The physiology and chemistry of rigor mortis with special reference to the aging of beef». Advances in Food Research, 1948, 1, 1—54.
86. Bate-Smith E. C. and Bendall J. R. «Changes in muscle after death». British medical Bulletin, 1956, 12, 3, 230—235.
87. Batzler O. F., Santoro A. T. and Landmann W. A. «Beef flavour Identification of Some beef flavour precursors». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1962, 10, 2, 94—96.
88. Bendall J. R., Hallund O., and Wismer-Pedersen I. «Post mortem changes in the muscles of Landrace pigs». Journal of the food Science, 1963, 28, 2, 156—162.
89. Biserte G., Holleman J. W., Holleman—Dehove Y. et. Santiere P. «Chromatographie sur papier des dinitrophenylaminoacides». Journal of chromatography, 1959, 2, 3, 225—271.
90. Biserte G., Holleman J. W., Holleman—Dehove I., and Santiere P. «Chromatographie sur papier des dinitrophenylaminoacides». Journal of Chromatography, 1960, 3, 1, 85—86.
91. Bozler E. «Binding of Calcium and Magnesium by the contractile elements». The Journal of general physiology, 1955, 38, 6, 735—742.
92. Bradley H. C. «Autolysis and Atrophy». Physiological reviews. 1938, 18, 2, 173—196.
93. Dahl O. «Proteolytische Vorgänge während der Reifung von Fleisch». Nahrung, 1962, 6, 5, 493—500.
94. Deatherage F. E. and Reiman W. «Measurement of beef tenderness and tenderization of beef by tenderay process». Food Research, 1946, 11, 6, 525—534.
95. Deatherage F. E. and Harsham. «Relation of Tenderness of Beef to Aging Time at 33—35° F». Food Research; 1947, 12, 2, 164—172.
96. De Fremery D. and Pool M. S. «Biochemistry of chicken muscle as related to rigor mortis and tenderisation». Food Research, 1960, 25, 1, cmp. 73—87.
97. Dodge I. W., and Stadelman W. I. «Post mortem aging of poultry meat and its effects on the tenderness of the breast muscles». Food Technology, 1959, 13, 2, 81—84.
98. Doty D. M. and Wachter I. P. «Influence of gamma radiation on proteolytic enzyme activity of beef muscles». Journal of agricultural and food chemistry, 1955, 3, 1, 61—63.
99. Drake M. P., Giffey J. W., Ryer R. and Harriman H. «Proteolytic enzyme activity in irradiation—sterilized meats». Science, 1957, 125, 3236, cmp. 23.
100. Dvorak Z. «Autolyza hoveziho svalu. I. Volne aminokyseliny». Ceskoslovenska Biologie, 1956, 5, 4, 236—240.
101. Dvorak Z. «Breakdown of adenine nucleotides in beef muscle post mortem and its relation to the content of NH₃». Experientia, 1958, 14, 133—134.
102. Dvorak Z. «Proteolytische Aktivität im Rindermuskel post mortem». Czechoslovak academy of Science. Collection of Czechoslovak chemical communications, Prague, 1960, 25, 8, 2059—2070.
103. Erdos T. «Rigor, contracture and ATP». Studies from the Institute of Medical chemistry University Szeged, 1943, 3, 51—56.
104. Fujimaki M., and Arakawa N. «Chemical studies on the Autolysis of meats. Part VII. on the chemical changes of myosin B during Aging of meats». Bulletin of the agricultural chemical Society of Japan, 1958, 22, 4, 249—255.
105. Fujimaki M., Arakawa N. and Joneta H. «Chemical Studies on Actin. Part I. On the changes of bindings of actin to alkaline earth metals during aging of meats». Bulletin of the Agricultural chemical Society of Japan, 1960, 24, 4, Suppl. cmp. 333—337.
106. Ginger I. D., Wachter J. P., Doty D. M., Schweigert B. S., Beard F. J., Pierce J. C. and Hankins O. G. «Effect of aging and cooking on the distribution of certain amino acids and Nitrogen in beef muscles». Food Research, 1954, 19, 4, 410—416.
107. Grau R. and Hamm R. «Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1957, 105, 6, 164, 446.

108. Hamm R. «Zur Biochemie der Fleischreifung. I. Mitt. Hydratation und Rigidität des Rindermuskels». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1959, 109, 2, 113—121.
109. Hamm R. «Zur Biochemie der Fleischreifung II Mitteilung. Proteinladung und Muskelhydratation». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1959, 109, 3, 227—234.
110. Hamm R. «Zur Biochemie der Fleischreifung. III Mitt. Das Pufferungsvermögen des Rindermuskels». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1959, 109, 4, 337—347.
111. Hamm R. «Zur Biochemie der Fleischreifung. IV Mitteilung. Die postmortale Änderung der Bindung von Magnesium, Calcium, Zink und Eisen im Rindermuskel». Zeitschr. für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1962, 117, 2, 132—138.
112. Hanson H. L., Stewart G. F., and Lowe B. «Palatability and histological changes occurring in New York dressed broilers held at 1,7°C». Food Research, 1942, 7, 2, 148—160.
113. Harrison D. L., Lowe B., McClurg B. R., and Shearer P. S. «Physical, organoleptic and histological changes in three grades of beef during aging». Food Technology, 1949, 3, 9, 284—288.
114. Hoagland R., McBride C. N., and Powick W. C. «Changes in fresh beef during of cold storage at the temperature above freezing». U. S. Department of Agriculture, 1917, Bulletin № 433, 1—100.
115. Howard A., and Lawrie R. A. «Studies on beef quality part 7». Department of Scientific and Industrial Research of Food Investigation, Special Report № 67 London, 1957.
116. Howard A., Lee C. A., and Webster H. L. «Studies on beef quality. C. S. I. R. O.» Australian Division of Food Preservation. Technical paper, 1960, 21.
117. Husaini S. A., Deatherage F. E., Kunkle L. E., and Draudt H. N. «Studies on meat I. The biochemistry of beef as related to tenderness». Food Technology, 1950, 4, 8, 313—316.
118. Husaini S. A., Deatherage F. E., and Kunkle L. E. «Studies on meat II. Observations on relations of biochemical factors to changes in tenderness». Food Technology, 1950, 4, 9, 366—369.
119. Hvidberg E. «Effect of dehydration and fasting on the water—binding mechanism of connective tissue». Acta pharmacologic et toxicologic, 1959, 16, 1—2, 28—37.
120. Hvidberg E. «Growth and connective tissue ground Substances». Acta pharmacologic et toxicologic, 1959, 16, 1, 55—61.
121. Hvidberg E., and Jensen C. E. «Changes in molecular weight of acid mucopolysaccharides in connective tissue due to hormone treatment, dehydration and age». Acta chemica Scandinavica, 1959, 13, 10, 2047—2056.
122. Hvidberg E. «Water—binding by connective tissue and acid mucopolysaccharides of the ground substances». Acta pharmacologic et toxicologic 1960, 17, 3, 267—276.
123. Janda S., Novotny I., Zak R. «Proteolytic activity and nucleic acid content in different types of muscles». Physiologia Bohemoslovenica, 1962, 11, 6, 518—521.
124. Kassemarn B. O., Sanz Perez B., Murrey I. and Jones N. R. «Nucleotide degradation in the muscle of iced Haddock, Lemon Sole, and Plaice». Journal of the food Science, 1963, 28, 1, 28—37.
125. Kerr S. E. and Seraidarian K. «The pathway of decomposition of myoadenylate acid during autolysis in various tissues». The journal of biological chemistry, 1945, 159, 3, 637—647.
126. Kies M. W., Schwimmer S., and Walden M. K. «Proteinase in brains». Journal of Biological chemistry, 1942, 145, 685—691.
127. Klose A. A., Pool M. F., Wiele M. B., Hanson H. L. and Lineaver H. «Poultry tenderness. I. Influence of processing on tenderness of turkeys». Food Technology, 1959, 13, 1, cmp. 20—24.
128. Koszalka T. R., and Miller L. L. «Proteolytic Activity of Rat Skeletal Muscle. I. Evidence for the existence of an Enzyme active optimally at pH 8.5—to 9.0. II Purification and properties of an enzyme active optimally at pH 8.5 to 9.0». Journal of Biological chemistry, 1960, 235, 3, 666—668 a 669—672.
129. Kronman M. I., and Winterbottom R. I. «Meat aging and freezing. Post—Mortem changes in the Water—Soluble Proteins of Bovine skeletal Muscle during Aging and Freezing». Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1960, 8, 1, cmp. 67—72.
130. Lawrie R. A. «The onset of rigor mortis in various muscles of the draught horse». The journal of Physiology, 1953, 121, cmp. 275—288.
131. Lawrie R. A., Manners D. L., and Wright A. «Glycogen Structure and rigor mortis in mammalian muscles». The Biochemical journal 1959, 73, 3, 485—495.
132. Lawrie R. A., Sharp, I. G., Bendall I. R., and Coleby B. «Treatment of meats with ionising radiation. VIII. pH, water—binding capacity and proteolysis of irradiated raw Beef and Pork during storage, and the ATP—ase activity of irradiated Rabbit muscle». Journal of the Science of Food and Agriculture 1961, 12, 742—751.
133. Lehman K. B. «Studien über die Zähigkeit des Fleisches und ihre Ursachen». Archiv für Hygiene, 1907, 63, 134—179.
134. Locker R. H. «Proteolysis in the storage of beef». Journal of the Science of Food and Agriculture; 1960, 11, 9, 520—526.
135. Lördrich F. and Biro G. «Zusammenhänge zwischen Muskelfaserdurchmesser und Fleischqualität». Fleischwirtschaft, 1960, 12, 5, 377—380.
136. Lowe B. «Mechanical measurement of the tenderness of raw and cooked beef, 1934». Изучено на Грисволд R. M. and Wharton M. A. Food Research, 1941, 6, 5, 517—528.
137. Marsh B. «Rigor mortis in beef». Journal of the Science of Food and Agriculture, 1954, 5, 2, 70—75.
138. May K. N., Saffle K. D., Downing D. L., and Powers I. I. «Interrelations of post—mortem changes with tenderness of chicken and pork». Food Technology, 1962, 16, 1, cmp. 72—78.
139. Meyer B. and Chaffee E. «The mucopolysaccharides of skin». The journal of biological chemistry, 1941, 138, 2, 491—499.
140. Meyer B., Thomas I. Buckley R., and Cole I. W. «The Quality of grain finished and grass Finished Beef as affected by Ripening». Food Technology, 1960, 14, № 1, cmp. 4—7.
141. Meyer B., Thomas I., and Buckley R. «The effect of ripening on the thiamine, riboflavin and niacin content of beef from grainfinished and grass finished steers». Food Technology, 1960, 14, № 4, 190—192.
142. Miller M., and Kastelic I. «Meat tenderness factors, chemical responses of connective tissue of bovine Skeletal Muscle». The journal of Agricultural and Food chemistry, 1956, 4, 6, 537—542.
143. Miyada D. S., and Tappel A. L. «The hydrolysis of beef proteins by various proteolytic enzymes». Food Research, 1956, 21, 2, 217—225.
144. Moran T. and Smith E. C. «Post—Mortem changes in animal tissues, the conditioning or ripening of beef». Department of the Science and Industrial Research. Food Investigation Board, 1929, Special Report № 36, 1.
145. McIntosh E. N. «Determination of mucoprotein in Skeletal muscles». The journal of the Agricultural and Food Chemistry, 1961, 9, 6, 421—424.
146. Niewiarowicz A. «Zmiany Zawartości niektórych wolnych aminokwasów i peptydów podczas dojrzewania (przechowywania) mięsa wołowego i wieprzowego». Przemysł spożywczy 1956, 7, 280—281.
147. Niewiarowicz A. «Zmiany jakościowe i ilościowe niektórych wolnych aminokwasów i peptydów podczas dojrzewania mięsa». Roczniki Wyzszej Szkoły Rolniczej w Poznaniu 1958, 2, 129—184.

148. Niinivaara F. P. und Ryynänen T. «Die Wasserbindungsfähigkeit von Fleisch». Fleischwirtschaft, 1953, 5, 10, 261—262.

149. Ostern P. «Über die Purinkörper des Kaninchennuckels». Biochemische Zeitschrift, 1930, 221, 64—70.

150. Ostern P. «Über die Darstellung der Muskeladenylund Inosinsäure». Biochemische Zeitschrift 1932, 254, 65—70.

151. Parimann W. «Post-mortem changes in chilled and Frozen Muscles». The Journal of the Food Science, 1963, 28, 1, cmp. 15—27.

152. Paul P. C., Lowe B., and McCaug B. R. «Changes in histological Structure and Palatability of beef during storage». Food Research, 1944, 9, 3, 221—233.

153. Paul P. C. and Bratzler L. I. «Studies on Tenderness of beef. II. Varying storage times and Conditions». Food Research, 1955, 20, 6, 626—634.

154. Prudent I. «Collagen and elastin content of four beef muscles aged varying periods of time». Iowa state college. The Journal of Science, 1948—1949, 23, 72—74.

155. Ramsbottom I. M., and Strandine E. I. «Initial physical and chemical changes in beef as related to tenderness». The Journal of Animal Science 1949, vol. 8, № 3, 398—410.

156. Rice E. E., Squires E. M., and Fried I. F. «Effect of storage and microbial action on vitamin content of pork». Food Research, 1948, 13, 195—202.

157. Sanger F. «The arrangement of amino acids in proteins». Advances in protein chemistry, 1952, 7, 1—67.

158. Sanger E. and Tompkins E. «The amino acid Sequence in the glycol Chain of Insulin». Biochemical Journal, 1953, 53, 3, 353—374.

159. Scherman P. «The water-binding capacity of the fresh pork. I. The Influence of Sodium chloride, pyrophosphate and polyphosphate on water absorptions». Food Technology, 1961, 15, 2, cmp. 79—87, 87—89.

160. Scherman P. «The Influence of Ion absorption from neutral salts and polyphosphate on water retention by lean pork». Food Technology, 1962, 16, 4, cmp. 91—95.

161. Schwartz T. B. «Variations in rat dipeptidase activity following parental administration of activator and inhibitors». The Journal of biological chemistry, 1953, 204, 1, 61—66.

162. Schweigert B. S., McIntire I. M., and Elvehjem C. A. «The retention of vitamins in meats during storage, curing and cooking». The Journal of Nutrition, 1943, 26, 1, 73—80.

163. Sharp I. G. «Aseptic autolysis in rabbit and bovine muscle during storage at 37°». The Journal of the Science of food and agriculture, 1963, 14, 7, 468—479.

164. Sherry S., Troll W., and Rosenblum E. D. «Collagenase activity of cathepsins». Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine 1954, 87, 125—128.

165. Sleeth R. B., Kelley G. G. and Brady D. E. «Shrinkage and organoleptic characteristics of beef Aged in Controlled Environments». Food Technology, 1958, 12, 2, 86—90.

166. Sliwinski R. A., Doty D. M., and Landmann W. A. «Overall assay and partial purification procedures for proteolytic enzymes in beef muscles». The Journal of agricultural and food chemistry, 1959, 7, 11, 788—791.

167. Smith E. L. «The glycyglycine dipeptidases of skeletal muscle and human uterus». The Journal of biological chemistry, 1948, 173, 2, 571—584.

168. Smith E. L. «The peptidases of skeletal; hearth and uterine muscles». The Journal of biological chemistry, 1948, 173, 2, 553—569.

169. Snoko I. E. and Neurath H. «The proteolytic activity, of striated rabbit muscle». The Journal of biological chemistry, 1950, 187, 1, 127—135.

170. Steiner G. «Die postmortalen Veränderungen des Rindermuskels bei verschiedeny temperaturen gemessen an seinem mechanischen verhalten». Archiv für Hygiene und Bakteriologie, 1939, 121, 193—208.

Отредактировал и опубликовал на сайте : PRESSI (HERSON)

171. Stern K. G. «Über die autolytische Wirksamkeit der tierischen Gewebsproteinasen und ihre Beeinflussung durch Schwermetalle». Biochemische Zeitschrift 1931, 234, 116—138.

172. The Science of meat and meat products San Francisco and London, 1960.

173. Thom and Hunter. Hygiene fundamentals of food handling, 1924.

174. Titus D. S. and Klis I. B. «Product improvement with new flavor enhancers». Food processing 1963, 24, 5, cmp. 128—129 u 150—151.

175. Tressler D. K. and Murray W. T. «Tenderness of meat. II. Determination of period of Aging grade A Beef required to produce a Tender Quick—Frozen Product». Industrial and Engineering Chemistry, 1932, 24, 8, 890—892.

176. Weinberg B. and Rose D. «Changes in protein Extractability. During post-rigor Tenderization of chicken Breast Muscles». Food Technology, 1960, 14, 8, 376—379.

177. Weiner S., Mangel M., Maharg L. and Kelley G. G. «The effectiveness of Commercial papain in meat tenderization». Food Technology, 1958, 12, 5, 248—252.

178. Wierbicki E., Kunkle L. E., Cahill V. R., and Deatherage F. E. «The Relation of Tenderness to protein Alterations during post mortem aging». Food Technology, 1954, 8, 11, 506—511.

179. Wierbicki E., Kunkle L. E., Cahill V. R., and Deatherage F. E. «Post Mortem Changes in meat and their possible Relation to Tenderness together with some comparisons of meat from Heifers, Bulls, Steers and Diet-hylstibestrol treated Bulls and Steers». Food Technology, 1956, 10, 2, 80—86.

180. Wierbicki E., Cahill V. R. and Deatherage F. E. «Effects of added sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, magnesium chloride and citric acid on meat shrinkage at 70° C and added Sodium Chloride on drip losses after freezing and thawing». Food Technology, 1957, 11, 2, 74—76.

181. Winegarden M. W., Lowe B., Kastelic I., Kline E. A., Plagge A. R., and Shearer P. S. «Physical changes of connective tissues of beef during heating». Food Research 1952, 17, 172—184.

182. Wood T. «The browning of ox muscle extracts». The Journal of the Science of Food and Agriculture, 1961, 12, 1, 61—69.

183. Ioshida T. and Kageyama H. «Inosinic acid salt as a condiments». Japan patent, 1956, № 732.

184. Zender R., Lataste—Dorolle C., Collet R. A., Rowinski P., and Mouton R. F. «Aseptic Autolysis of muscle: Biochemical and microscopical modifications occurring in Rabbit and Lamb Muscle during aseptic and anaerobic storage». Food Research, 1958, 23, 3, 305—326.

185. Zender R., Lataste—Dorolle C., Collet R. A., Rowinski P., Radouco—Thomas C., and Mouton R. F. «Surface irradiation and aseptic muscle autolysis». Second United Nations International Conference on the peaceful uses of atomic energy. A/conf. 15/228, Geneva, 1958.

Глава 7

1. Бельский Н. Г. Демонтаж убойного скота. Доклад № 15 на VIII Европейском Конгрессе работников научно-исследовательских институтов мясной промышленности. М., 1962.
2. Бенсон М. Обработка мяса ультрафиолетовыми лучами. «Мясная и молочная промышленность СССР», 1946, № 3.
3. Воловицкая В. П., Рубашкина С. М., Соловьев В. И., Дыклов В. К. Применение фосфатов в колбасном производстве. Труды ВНИИМПА, Пищепромиздат, 1958, № 8.
4. Головкин Н. А. Роль ультрафиолетовых лучей в сохранении скоропортящихся продуктов. «Холодильная техника», 1950, № 1.

5. Головкин Н. А. Применение ультрафиолетовых лучей при обработке и хранении пищевых продуктов. «Мясная индустрия СССР», 1952, № 2.
6. Головкин Н. А. Технология охлаждения мяса. Диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук. Л., 1953.
7. Головкин Н. А. Действие УФЛ на плесневые грибы. Труды Ленинградского технологического института холодильной промышленности, 1955, № 9, с. 140—155.
8. Данилов М. М. Применение УФЛ для повышения стойкости при хранении мяса и колбасных изделий в свежем состоянии. Юбилейный сборник Научных Трудов Ленинградского Института Советской торговли. Госторгиздат, 1950.
9. Зяя Ю. Ф. Пути применения ультразвука в мясной промышленности. ЦИТИНПищепром, 1963.
10. Ишуков В. П., Христуло Л. А., Шевельков В. Л., Янушкин Н. П. Авторское свидетельство № 10224501 от 20/IV 1954 г.
11. Пальмин В. В. «Физико-химические изменения мяса в процессе хранения». Труды ВНИИМПа. Пищепромиздат, 1955, № 7.
12. Пальмин В. В. и Ишуков В. П. Влияние токов высокой частоты на автолитические процессы в мышечной ткани. «Известия Высших учебных заведений». Пищевая технология, 1958, № 3.
13. Пальмин В. В., Тетерик Д. М., Авсюкевич В. С., Асламов В. Г., Гольдман Е. И., Зельманов И. С., Стефанов А. В., Холоднов О. С. Изучение возможности использования предубойной адrenaлизации в мясной промышленности. «Известия Высших учебных заведений». Пищевая технология, 1963, № 1.
14. Пальмин В. В., Тетерик Д. М., Авсюкевич В. С. и Зельманов И. С. Влияние адrenaлизации животного на течение некоторых биохимических процессов. «Мясная индустрия СССР», 1963, № 4.
15. Смородинов И. А., Вольферц В. Ю., Крылова Н. Н., Николаева Н. В., Ляскова Ю. Н. и Пассонина В. И. Установление связи между органолептическими, физико-химическими и химическими признаками зрелого мяса. «Украинский биохимический журнал», 1937, т. 10, № 1.
16. Соловьев В. И. Биохимические процессы, протекающие при созревании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1952, № 2.
17. Соловьев В. И. и Пууляк В. С. Новые данные о созревании мяса. «Мясная индустрия СССР», 1951, № 4.
18. Соловьев В. И., Пууляк В. И., Боткина А. Г. и Михайлова Е. Н. Созревание мяса крупного рогатого скота. Труды ВНИИМПа. Пищепромиздат, 1953, № 5.
19. Соловьев В. М. и Шеголева О. П. Изменения в белковой системе мяса в процессе его созревания. Труды ВНИИМПа. Пищепромиздат, 1964, № 16.
20. Эльманер И. Е., Деборин Г. А. и Зорина О. М. Молекулярный вес и ферментативная активность протеолитических ферментов, облученных ультразвуковыми волнами. «Биохимия», 1959, т. 24, № 5.
21. Brown P. D. «Tenderization by High temperature ageing». Food Manufacture, 1957, 32, 12, сmp. 566.
22. Chajuss D. and Spencer I. V. «The effect of oxidizing and reducing aging media on the tenderness of excised chicken muscles». Journal of Food Science, 1962, 27, 3, 303—305.
23. De Fremery D. and Pool M. S. «Biochemistry of chicken muscle as related to rigor mortis and tenderization». Food Research, 1960, 25, 1, 73—87.
24. Dodge I. W. and Stadelman W. I. «Post mortem aging of poultry meat and its effects on the tenderness of the breast muscles». Food Technology, 1959, 13, 2, 81—84.
25. Gerrard F. «Meat. Ultrasonics and meat tenderizing». Food Manufacture, 1958, 33, 2, 72—75.
26. Griswold R. M. and Wharton M. A. «Effect of storage conditions on palatability of beef». Food Research, 1941, 6, 5, 517—528.
27. Hagen W. F. «Method for tenderizing of meats». Patent USA No 2980537 18—04—1961.
28. Harsham A. Patent USA No 2544681 13—11—1951.
29. Hopkins E. W. and Zimont L. J. Patent USA No 2999019 5—09—1961.
30. Jamaguchi Kenji, Terauchi Akira, Tadoaka Osamu. Journal of the Osaka Medical School, 1958, 4, 402—408 n 476.
31. James R. F. Patent USA No 2169081 8—VIII—1939.
32. Kamstra L. D. and Saifile R. L. «The Effects of a Pre-Rigor Infusion of Sodium Hexametaphosphate on tenderness and certain chemical characteristics of meat». Food Technology, 1959, 13, 11, 652—655.
33. McCarthy J. F. and King C. G. «Some chemical changes accompanying tenderization of beef». Food Research, 1942, 7, 4, 295—299.
34. Nielsen K. W. «Storing meat under ultraviolet light». Konserve, 1957, 15, 3, 33—34.
35. Radouco—Thomas. G., Lataste—Dorolle C., Zender R., Collet R. A., Busell R., Mouton R. F. «The antiautolytic effect of epinephrine in skeletal muscle: non-additive process for preservation of meat». Food Research, 1959, 24, 5, 453—482.
36. Ramsbottom I. M. and Strandine E. «Initial physical and chemical changes in beef as related to tenderness». Journal of animal Science, 1949, 8, 3, 398—410.
37. Reiman W. C. Patent USA No 2932573 om 12—IV—1960.
38. Rentschler H. C. Patent USA No 2544724 13—III—1951.
39. Research at Mellon Institute News Edition. American Chemical Society, 1941, 19, 395.
40. Roschen L. and Ramsbottom J. M. Patent USA No 2519931 22—VIII—1950.
41. Simjian L. G. Patent USA No 2902712 21—VI—1957.
42. Simjian L. G. Patent USA No 2881079 7—IV—1959.
43. Simjian L. G. Patent USA No 2881080 7—IV—1959.
44. Sleeth R. B., Kelley G. G. and Brady D. E. «Shrinkage and organoleptic characteristics of beef aged in controlled Environments». Food Technology, 1958, 12, 2, 86—90.
45. Sleeth R. B. and Naumann H. D. «Efficacy of oxytetracycline for aging beef». Food Technology, 1960, 14, 2, 98—101.
46. The Science of meat and Meat Products. San Francisco and London, 1960.
47. Webb N. B., Bratzler R. L., Magle W. T. «Effect of Sonic vibration on tenderness of beef». Food Technology, 1962, 16, 6, 124—128.
48. Weiser H. H., Goldberg H. S., Cahill W. R., Kunkle L. E. and Deatherage F. E. «Observations on fresh meat processed by the infusion of antibiotics». Food Technology, 1953, 7, 12, 495—499.
49. Wierbicki E., Kunkle L. E., Cahill V. R., and Deatherage F. E. «The relation of tenderness to protein alternations during post mortem aging». Food Technology, 1954, 8, 11, 506—511.
50. Wierbicki E., Cahill V. R., and Deatherage F. E. «Effects of added sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, magnesium chloride and citric acid on meat shrinkage at 70°C and added Sodium chloride on drip losses after freezing and thawing». Food Technology, 1957, 11, 2, 74—76.
51. Williams B. E. Patent USA No 2870018 20—I—1959.
52. Wilson G. D., Brown P. D., Chesbro W. R., Ginger B. and Weir C. E. «The use of antibiotics and gamma irradiation in the aging of steaks at high temperatures». Food Technology, 1960, 14, 3, 143—147.

53. Wilson G. D., Brown P. D., Pohl C., Weir C. E. and Chesbro W. R. «A method for the rapid tenderization of beef carcasses». Food Technology, 1960, 14, 4, 186—189.
54. Wrenshall C. L. and Ottke R. C. Patent USA No 2942982 om 28—VI—1960.
55. Zender R., Lataste—Dorolle C., Collet R. A., Rowinski P., Radouco—Thomas C., and Mouton R. F. «Surface Irradiation and Aseptic muscle Autolysis». Second United Nations International Conference on the peaceful uses of atomic energy A/conf. 15/p/228 Geneva, 1958.

Глава 8

1. Адуцкевич В. А., Определение созревания мяса гистологическим методом. ЦИТИПишпром. Сб. Мясная птицеперерабатывающая промышленность, 1965, № 10.
2. Андеркофлер Л. А. Производство и применение ферментных препаратов в пищевой промышленности. Доклады, прочитанные на симпозиуме 1—2 октября 1959 года в Лондоне. Пищепромиздат, 1963.
3. Браунштейн А. Е. Современные представления о природе активных центров ферментов. Сб. «Актуальные вопросы современной биохимии» Медгиз, 1962, Т. 2.
4. Буткевич В. С. Энзимы и их распространение в растительном царстве. 1958 г.
5. Вадачкория Л. К. О размягчении жестких частей мясной туши в кулинарии. «Вопросы питания», 1958, № 1.
6. Головкин Н. А., Шаган О. С., Алямовский И. Г. Исследование процесса охлаждения мяса. «Мясная индустрия СССР», 1954, № 1.
7. Головкин Н. А., Шаган О. С., Алямовский И. Г. Зависимость продолжительности охлаждения мяса от скорости движения воздуха. «Мясная индустрия СССР», 1955, № 1.
8. Головкин Н. А., Шаган О. С., Алямовский И. Г. Теплообмен при охлаждении мяса. Труды Ленинградского технологического института холодильной промышленности, 1955, № 9.
9. Головкин Н. А., Шаган О. С., Алямовский И. Г. Влияние скорости движения воздуха на продолжительность охлаждения мяса. Труды Ленинградского института холодильной промышленности, 1956, № 11.
10. Головкин Н. А. Физические и биохимические процессы в мясе во время его охлаждения и хранения. Труды Ленинградского технологического института холодильной промышленности, 1956, № 11.
11. Гонашвили Ш. Г. Протеолитические свойства млечного сока нижнего дерева. «Вопросы питания», 1964, Т. 23, № 6.
12. Грин Н. и Нейрат Г. Разл. Протеолитические ферменты в книге под редакцией Нейрат и Бейли. Белки. Изд-во ИЛ М., 1959, Т. 3, Ч. 2.
13. Диваков А. Г. К вопросу охлаждения мяса. Труды ВНИИМПа, Вып. 3, Пищепромиздат, 1950.
14. Елманов С. Ф. К вопросу о размягчении жестких частей туши крупного рогатого скота. Автореферат кандидатской диссертации. М., 1963.
15. Ермаков А. И., Арасимов В. В., Смирнова-Иконникова М. И., Мурри И. К. Методы биохимического исследования растений. Сельхозгиз, 1952.
16. Кретович В. Л. Современные представления о природе и механизме действия ферментов. «Известия АН СССР». Серия биологическая, 1961, № 3.
17. Крылова Н. Н. и Лясковская Ю. Н. Физико-химические методы исследования продуктов животного происхождения. Пищепромиздат, 1961.
18. Кузнецова Г. Н. Исследование лабильности компонентов соединительной ткани при созревании мяса и обработке его протеолитическими

ферментами. Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук. М., 1964.

18. Левандовская М. А. К вопросу о переваривании белков физиологическим. Труды Тбилиского научно-исследовательского института вакцин и сывороток, 1960, № 4.
19. Лебедев Д. И., Елманов С. Ф. Расщепление растительными ферментами белков стромы говядины и влияние его на термическую дезагрегацию последних. «Вопросы питания», 1961, № 5.
20. Локшина Л. А. О действии трипсина и химотрипсина на стурин. «Биохимия», 1955, Т. 20, № 3.
21. Мосолов В. В. О характере распада белков под действием протеолитических ферментов. «Биохимия», 1959, Т. 24, № 4.
22. Одинцов А. И. Ферменты в кулинарии. «Вопросы питания». 1957, № 2.
23. Орехович В. Н. Об активности протеолитических ферментов злокачественных образований. «Биохимия», 1938, Т. 3, № 4.
24. Орехович В. Н. Об особенностях белков и протеолитических ферментов злокачественных образований. «Архив биологических наук», 1940, Т. 60, № 1 (10).
25. Орехович В. Н. О синтезе, обновлении и превращении белков в организме и вне организма. VIII Всесоюзный съезд физиологов, биохимиков и фармакологов. Тезисы докладов. Изд-во АН СССР, 1955.
26. Орехович В. Н., Павлихина Л. В. и Шпикер В. О. О природе щелочнорастворимой фракции коллагена. «Биохимия», 1957, Т. 22, № 1—2.
27. Орехович В. Н. Химическое строение протеолитических ферментов и специфичность их действия. Сб. «Актуальные вопросы современной биохимии», Т. 2. Медгиз, 1962.
28. Ратушный А. С. Очистка протеолитических ферментов из проросших семян сои. ЦИТИПишпром. Пищевая промышленность (мясная и птицеперерабатывающая), 1963, № 11.
29. Соловьев В. И., Аглицкая А. В., Кулик Я. И., Барер Т. Л. Ферментация мяса как способ улучшения его качества. «Мясная индустрия СССР», 1962, № 4.
30. Соловьев В. И., Кузнецова Г. Н., Кракова В. З., Агапова З. А., Щеголева О. П., Карпова В. П. Свойства филлина и методы его получения. ЦИТИПишпром. Сб. Применение протеолитических ферментов в производстве мясных полуфабрикатов, 1964.
31. Соловьев В. И., Кузнецова Г. Н., Волкова А. Г., Агапова З. А., Щеголева О. П., Миттельштейн Т. М., Кракова В. З., Глазова Н. Г., Карпова В. П. Применение филлина для размягчения мяса при производстве натуральных полуфабрикатов. ЦИТИПишпром. Сб. Применение протеолитических ферментов в производстве мясных полуфабрикатов, 1964.
32. Соловьев В. И. К вопросу о химизме процессов, обуславливающих улучшение консистенции мяса при его созревании и обработке протеолитическими ферментами. Доклад № 24 на VIII Европейском конгрессе рабботников научно-исследовательских учреждений мясной промышленности. М., 1962.
33. Соловьев В. И., Щеголева О. Н., Агапова З. А. О начальной стадии протеолиза белков филлина, происходящего в процессе созревания мяса. «Биохимия», 1964, Т. 29, № 3.
34. Соловьев В. И., Агапова З. А. и Пальмин В. В. Изменение белков филлина в процессе автолиза при хранении облученной мышечной ткани «Прикладная биохимия и микробиология», 1965.
35. Соловьев В. И., Волкова А. Г., Кузнецова Г. Н., Глазова Н. Г. Биохимические изменения при хранении быстроохлажденного го-

вяжого мяса. Доклад на X Европейском конгрессе работников научно-исследовательских институтов мясной промышленности. М., 1964.

32. Черников М. П. Некоторые вопросы теории действия протеиназ. «Успехи современной биологии», Т. XIII, Вып. 1(4), 1956.

33. Черников М. П. Механизмы действия протеиназ. Сб. «Актуальные вопросы современной биохимии». Т. II. Медгиз, 1959.

34. Шеффер А. П., Саатян А. К. Техника и технология интенсивного охлаждения мяса за рубежом. ЦИТИПЦентром, 1964.

35. Энгельгардт В. А. Некоторые проблемы современной биохимии. Изд-во АН СССР, 1959.

36. Andrews I. C., Cornatzer W. E. «Some properties of ficin». The journal of pharmacology and Experimental therapeutics, 1942, 74, 2; 129—133.

37. Anonymous. «Pre-kil injection tenderizing revealed by Swift-Food Engineering, 1960, 32, 7, 81.

38. «Tenderising american meat». Meat and Wool, 1958, 149, 2, emp. 13.

39. «Tenderising on the hoof». The meat produces and Exporter. Australia, 1960, 14, 6, emp. 2.

40. Bavisotto V., Miller C., Dewane R. «Compatibility of plant, animal and microbiological proteases». Food Research, 1960, 25, 1, 58—63.

41. Bernhard S. A., and Gutfreund H. «Ficin—catalysed reactions: the affinity of ficin for some arginine derivative». The Biochemical journal, 1956, 63, 1, 61—64.

42. Blau K. and Walley S. G. «Chymotrypsin—catalysed transpeptidations». The Biochemical journal, 1954, 57, 538—541.

43. Bonem F. L. «On the hoof tenderisation brings new look to meat». Food Processing, 1961, 22, 7, 30—33.

44. Cohen W. «Characterization of ficin». Nature, 1958, 182, 659—660.

45. El-Gharbawi M., and Whitaker I. K. «Factors affecting Enzymic solubilization of beef proteins». The journal of food Science, 1963, 28, 2, 169—172.

46. Farrell I. H. «The effect on digestibility of methods Commonly used to increase the tenderness of lean meats». The British journal of Nutrition, 1956, 10, 2, 111—115.

47. Gattschall G. J., and Kels M. W. «Digestion of beef by papain». Food Research, 1942, 7, 5, 373—381.

48. Greenberg D. M., and Winnick T. «Enzymes that hydrolyze the carbon-nitrogen bond: proteinases, peptidases and amidases». Annual review of biochemistry, 1945, 14, 31—68.

49. Hammond B. R., and Gutfreund H. «The mechanism of ficin—catalysed reactions». The Biochemical journal, 1959, 72, 2, 349—357.

50. Hay P. P., Harrison D. L., and Vail G. E. «Effects of a meat tenderizer on less tender cuts of beef cooked by four methods». Food Technology, 1953, 7, 5, 217—220.

51. Hinrichs I. R. and Whitaker I. R. «Enzymatic degradation of collagen». The journal of food Science, 1962, 27, 3, 250—254.

52. Jaffe W. G. «The sap of Fig Trees». (as an anthelmintic). Tropical Diseases Bulletin, 1943, 40, 6, 612—.

53. Jaffe W. G. «The activation of papain and related plant enzymes with sodium thiosulfate». Archives of biochemistry, 1945, 8, 3, 385—393.

54. Kramer D. E., and Whitaker I. R. «Ficus Enzymes. II. Properties of the proteolytic enzymes from the latex of Ficus carica variety Kadota». The journal of Biological chemistry, 1964, 239, 7, 2178—2183.

55. Krishnamurty C. R., and Subrahmanyam V. «Vegetable rennet. III. Milk—clotting and protease components in fig latex preparations». Indian journal of Dairy Science, 1949, 2, 19—29.

56. Liener I. E. «A study of the number and reactivity of the sulfhydryl groups of ficin». Biochimica et Biophysica Acta, 1961, 53, 2, 332—342.

57. Mandl I. and Mc Laren A. D. «Photochemistry of proteins». VII. Quantum yield for the inactivation of ficin by ultraviolet light. Archives of Biochemistry, 1949, 21, 408—415.

58. Matsuyama I., Shimura K. «Activation of papainases». Symposia on Enzyme Chemistry (Japan) 1949, 3, 28—39.

59. Messing R. A. and Van Ness W. P. «Separation of ficin components by certain electrophoresis». Enzymologia, 1961, 23, 6, 373—379.

60. Miller M., Kestel J. «Meat tenderness factors. Chemical responses of connective tissue of bovine skeletal muscle». The journal of Agriculture and Food Chemistry, 1956, 4, 6, 537—542.

61. McIntosh E. N., and Carlin A. F. «The effect of papain preparations on beef skeletal muscle proteins». The journal of food Science, 1963, 28, 3, 283—285.

62. Miyada D. S. and Tappel A. L. «The hydrolysis of beef proteins by various proteolytic enzymes». Food Research, 1956, 21, 2, 217—225.

63. Nakao T. «Ficin I. Specificity». Acta School. med. University of Kyoto, 1952, 29, 167—175.

64. Partmann W. «Zur Frage der künftlichen Fleischreifung mit papainhaltigen Präparaten». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung 1955, 102, 5, 321—329.

65. Pope C. G. «The action of proteolytic enzymes on the antitoxins and proteins in immune sera. I. True digestion of the proteins». British journal of Experimental Pathology, 1939, 20, 2, 132—149.

66. Ramsbottom I. M. Patent USA № 2240518, 6—05—1941.

67. Robbins B. H. «A proteolytic enzyme in ficin, the antelmintic principle of Leche de Higuera». The journal Biological chemistry, 1930, 87, 2, 251—257.

68. Robbins B. H. «Proteolytic Enzyme content of Latex from the Fig Tree (Ficus Carica L.) Seasonal Variations». Proceeding of the Society for experimental Biology and Medicine, 1935, 32, 6, 892—893.

69. Robbins B. H. «Proteolytic Enzyme in the latex from the fig tree (Ficus glabrata). The pH of optimal activity». Proceeding of the Society for experimental Biology and Medicine, 1935, 32, 6, 894—896.

70. Schormüller I. and Adler G. «Die Stickstoffbilanz des Fleisches bei natürlicher und künstlicher Reifung». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1959, 109, 1, 13—26.

71. Sgarbieri V. C., Gupta S. M., Kramer D. E. and Whitaker I. R. «Ficus Enzymes I. Separation of the proteolytic enzymes of Ficus Carica and Ficus Glabrata latices». The journal of Biological Chemistry, 1964, 239, 7, 2170—2177.

72. Shering A. G. Patent U. S. 972723, 10—02—1959.

73. Sherry S., Troll W., Rosenbloom E. D. «Collagenase activity of Cathepsins». Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1954, 87, 125—128.

74. Silberstein O. «Meat tenderizers». American Perfumer and Arom., 1960, 75, 2, 41—42.

75. Tappel A. L., Miyada D. S., Sterling C., and Maier V. P. «Meat tenderization. II. Factors affecting the tenderization of beef by papain». Food Research, 1956, 21, 3, 375—383.

76. Thomas I., and Partridge S. M. «The elastase activity of proteolytic enzymes». The biochemical journal, 1960, 74, 3, 600—607.

77. The Science of meat and meat products. San Francisco, 1960.

78. Tiselius A., Eriksson—Quenell I. B. «Some observations on peptic digestion of egg albumin». Biochemical journal, 1939, 33, 11, 1752—1756.

79. Tsen C. C. and Tappel A. L. «Meat tenderization. III. Hydrolysis of actomisin, actin and collagen by papain». Food Research, 1959, 24, 4, 362—364.

80. Tsugo T. and Yamauchi K. «The inhibition of milk-coagulating enzymes by blood serum». International Dairy Congress. Proceeding of 13th Congress in Hague, 1953, 4, 641—644.
81. Uchino S. and Kojima N. «Effect of metal salts on the ficin-catalyzed hydrolysis of gelatin». Naika Hokan, 1957, 4, 548—549.
82. Walby A. «Crystalline Ficin». The Journal of the American Chemical Society, 1938, 60, 2, 493.
83. Wang H. and Maynard N. «Studies on enzymatic tenderization of meat. I. Base technique and histological observations of enzymatic action». Food Research, 1956, 20, 6, 587—597.
84. Wang H., Weir C. E. and Maynard N. «Meat tenderization. A preliminary study of the effect of proteolytic enzyme preparations on the structural characteristics of beef». Annual report of American Meat Institute Foundation, 1956, Bull. N 29, 11—12.
85. Wang H., Weir C. E., Birkner M. L., and Ginger B. «Studies on enzymatic tenderization of meat. III. Histological and panel analysis of enzyme preparations from three distinct sources». Food Research, 1958, 23, 5, 423—438.
86. Weiner S., Mangel M., Maharg L., and Kelley G. «Effectiveness of commercial papain in meat tenderization». Food Technology, 1958, 12, 5, 248—252.
87. Weir C. E., Wang H., Birkner M. L., Parsons I., and Ginger B. «Studies on enzymatic tenderization of meat. II. Panel and histological analysis with liquid tenderizers containing papain». Food Research, 1958, 23, 5, 411—422.
88. Whitaker I. R. «Assay and properties of commercial ficin». Food Research, 1957, 22, 5, 468—478.
89. Whitaker I. R. «Properties of the proteolytic enzymes of commercial ficin». Food Research, 1957, 22, 5, 483—493.
90. Whitaker I. R. «The ficin content of the latex from different varieties of Ficus Carica and a comparison of several micro-methods of protein determination». Food Research, 1958, 23, 4, 364—370.
91. Whitaker I. R. «The effect of variety and maturity on the proteolytic enzyme content of figs». Food Research, 1958, 23, 4, 371—379.
92. Whitaker I. R. «Inhibition of sulphhydryl enzymes with sorbic acid». Food Research, 1959, 24, 37—43.
93. Williams B. E. Patent USA № 2999020, 5—09—1961.
94. Winnick T., Cone W. H., and Greenberg D. M. «Experiments on the activation of ficin». The Journal of Biological Chemistry, 1944, 153, 2, 465—470.
95. Yaito-Manzo E. and Whitaker I. R. «Ficin-catalyzed Hydrolysis of elastin». Archives of biochemistry and Biophysics, 1962, 97, 1, 122—127.
96. Yoneya, Toshio. «Specificity of ficin». The Journal of Biochemistry (Japan), 1950, 37, 105—112.
97. Zender R., Lataste-Dorolle C., Collet R. A., Rowinski P., Radouco-Thomas C., and Mouton R. F. «Surface irradiation and aseptic muscle autolysis. Second United Nations International Conference on the peace—full uses of atomic energy». A/conf. 15/p/228, Geneva, 1958.

Глава 9

1. Архангельская З. В. Определение компонентов жесткости воды комплексометрическим методом. «Заводская лаборатория», 1954, Т. 20, № 1.
2. Бабко А. К. Комплексные соединения в аналитической химии. «Заводская лаборатория», 1945, Т. 11, № 1—12.
3. Башкирева А. А., Савиновский Д. А., Стюкель Т. Б., и Якимец Е. М. Трилометрические методы химического контроля на тепловых электростанциях. Госэнергоиздат, 1957.

4. Белозерский А. Н. (под редакцией). Нуклеиновые кислоты. Иностранная литература, 1957.
5. Бояркин А. Н. Разноцветное проявление аминокислот на бумажных хроматограммах. «Физиология растений», 1956, Т. 3, № 4.
6. Бояркин А. Н. Дополнительное проявление аминокислот на бумажных хроматограммах. Физиология растений, 1958, Т. 5, № 1.
7. Бояркин А. Н. и Дмитриева М. И. Разделение аминокислот на бумажных хроматограммах малого размера. «Физиология растений», 1958, Т. 5, № 4.
8. Воловниская В. П. и Меркулова В. К. Методы определения влагопоглощаемости мяса. Бюро технической информации и пропаганды ВНИИМПа. Вып. 21, 1958.
9. Гладышев Б. Н. Метод определения гексозаминосодержащих соединений в биологических объектах. «Биохимия», 1956, Т. 21, № 2.
10. Гладышев Б. Н. Определение аминокислот в гидролизатах животных, растительных и бактериальных объектов. «Биохимия», 1959, Т. 24, № 5.
11. Головкин Н. А. Действие ультрафиолетовых лучей на плесневые грибы. Труды Ленинградского технологического института холодильной промышленности, 1955, № 9.
12. Головкин Н. А. и Першина Л. И. Посмертные механо-химические изменения и их роль при консервировании рыбы холодом. Труды научно-исследовательского института механизации рыбной промышленности. Л., 1961, № 1, 2.
13. Горюшина В. Г., Трилон Б. и возможности его использования в аналитической химии. «Заводская лаборатория», 1954, Т. 20, № 6.
14. Жеребцова П. Приборы для определения нежности мяса. «Мясная индустрия СССР», 1956, № 5.
15. Зайцева Г. Н., Тюленева Н. П. Количественное определение аминокислот на хроматограммах посредством образования медных производных с нингидрином. «Лабораторное дело», 1958, № 3.
16. Касавина Б. С., Зенкевич Г. Д. Мукполисахариды хрящевой и костной ткани в процессе онтогенеза и регенерации. «Биохимия», 1960, Т. 25, № 4.
17. Кротович В. Л. и Токарева Р. Р. Летучие ароматические вещества солода и хлеба. Доклады АН СССР. Новая серия, 1949, Т. 49, № 2.
18. Кривола Н. Н., Лясковская Ю. Н. Физико-химические методы исследования продуктов животного происхождения. Пищепроизвод, 1961.
19. Кузин А. М. и Гладышев Б. Н. Методика определения аминокислот легкогидролизуемых гексозаминосодержащих соединений в растительных объектах. «Биохимия», 1954, 19, 6.
20. Кузнецова Г. Н. Исследование лабильности компонентов соединительной ткани при созревании мяса и обработке его протеолитическими ферментами. Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук. М., 1964.
21. Курко В. И. Объективное определение консистенции пищевых продуктов. «Мясная индустрия СССР», 1948, № 4.
22. Локшина Л. А. и Орехович В. Н. О гидролизе денатурированных белков пепсином, трипсином и химотрипсином. «Биохимия», 1954, Т. 19, № 6.
23. Лурье Ю. Ю., Николаева З. В. Определение общей жесткости воды при помощи этилендиаминтетраацетата натрия. «Заводская лаборатория», 1951, Т. 17, № 9.
24. Любимова М. Н. Ферментативные свойства мюзида. Сб. «Вопросы биохимии мыши». Изд. АН УССР. Киев, 1954.
25. Максаков В., Олейник Т. и Абрамзон Б. Прибор для определения нежности мяса. «Мясная индустрия СССР», 1962, № 5.

26. Миндлина Д., Пальмин В., Шахназарова М. Средняя оценка отрубов мясной туши. «Мясная индустрия СССР», 1950, № 1.
27. Надлер Ф. И. Применение нитрозоаэрола в качестве восстановителя при определении фосфора по методу Фiske—Суббарова. «Биохимия», 1944, Т. 9, № 6.
28. Паскина Т. С. Количественное определение аминокислот при помощи хромографии на бумаге методом образования медных производных аминокислот с нингидрином. АМН СССР, Институт биологической и медицинской химии. Методические Письма. Вып. 1, М., 1959.
29. Попова Н. В. Определение и расчет протеолитической активности в культурах плесневых грибов и выделенных из них ферментных препаратов. Труды ЦНИИСП, 1960, Т. 9.
30. Саков Н. В. Перезертификация с монофосфатом и минерализация аденозинтрифосфорной кислоты в мышечном экстракте. «Биохимия», 1941, Т. 6, № 2.
31. Сент-Джорджи А. О мышечной деятельности. Медгиз, 1947.
32. Синякова С. И. Комплексы и их значение в аналитической химии. «Журнал аналитической химии», 1955, Т. 10, № 3.
33. Смирнов А. Прибор для определения консистенции мышечной ткани. «Мясная Индустрия СССР», 1938, № 3.
34. Смородинцев И. А., Жигалов В. П. Ферментативный гидролиз мышечных белков. «Украинский биохимический журнал», 1939, № 13, 3.
35. Соколов А. А., Эль-Дашлуги М. С. Влияние посмертных изменений мяса на его прочностные свойства. «Мясная индустрия СССР», 1963, № 4.
36. Соловьев В. И., Шумкова И. А., Карпова В. П., Мамаева С. А. Методы определения активности ферментных препаратов. ЦИТИ-Пищепром. Сб. Применение протеолитических ферментов в производстве мясных полуфабрикатов, 1964.
37. Соловьев В. И., Кузнецова Г. Н. Исследование лабильности основного вещества внутримышечной соединительной ткани в процессе хранения мяса при разных плесневых температурах. Труды ВНИИМПа. Вып. 16, Пищепромиздат, 1964.
38. Соловьев В. И., Кузнецова Р. Н., Волкова А. Г., Глазова Н. Г. Биохимические изменения, происходящие при хранении быстроохлажденного говяжьего мяса. Доклад на X Европейском конгрессе работников НИИ мясной промышленности. М., 1964.
- 38а. Соловьев В. И. и Кузнецова Г. Н. Определение компонентов соединительной ткани мяса. ЦИТИПищепром. Пищевая промышленность (мясная и птицеперерабатывающая), 1963, № 1.
- 38б. Соловьев В. И., Пиульская В. И., Боткина А. Г. Михайлова Е. Н. Созревание мяса крупного рогатого скота. Труды ВНИИМПа. Вып. 5, Пищепромиздат, 1963.
- 38в. Соловьев В. И. и Кузнецова Г. Н. Изменения соединительной ткани в процессе созревания мяса. «Мясная индустрия СССР», 1963, № 1.
- 38г. Соловьев В. И., Шеголева О. П. и Агапова З. А. О начальной стадии протеолиза белков фракции миозина, происходящего в процессе созревания мяса. «Биохимия», 1964, Т. 29, № 3.
39. Троицкая О. В. Определение конечных групп аминокислот в белках. Сб. «Современные методы в биохимии», Медицина, 1964.
40. Фомин А. К. Исследование влияния глубины автолиза свинины на качество соленных изделий. Автореферат диссертации. М., 1963.
41. Хейс И. М., Манек К. Хромография на бумаге. М., 1963.
42. Аварара I., Sato I. «Paper chromatography of urinary amino acids». Clinica chim. Acta, 1956, 1, 75—79.
43. Bailey K. «End-group assay in some proteins of the Keratin—Myosin group». The Biochemical journal, 1951, 49, 1, 23—27.
44. Bailey M. E., Hedrick H. B., Parrish F. C., and Naumann H. D. «L. E. E.—Kramer shear Force as a tenderness measure of beef Steak». Food Technology, 1962, 16, 12, 99—101.
45. Baker L. C., Lampitt L. H., and Brown K. P. «Connective tissue of meat. II. Determination of hydroxyproline». The journal of the Science of Food and Agriculture, 1953, 4, 4, 165—172.
46. Baker L. C., Lampitt L. H., and Brown K. P. «Connective tissue of meat. III. Determination of collagen in tendon tissue by the hydroxyproline methods». The journal of the Science of Food and Agriculture, 1954, 5, 5, 226—231.
47. Balenovic K., und Straub F. B. «Ober das Actomyosin des Kaninchenmuskles». Studies from the Institute of medical chemistry University Szeged, 1942, 2, 17—24.
48. Balo J. and Banga I. «Elastolytic Activity of Pancreatic Extracts». The Biochemical journal, 1950, 46, 4, 384—387.
49. Banga I., Balo J. and Horvath M. «Nephelometric Determination of Elastase Activity and Method for Elastoproteolytic measurements». The Biochemical journal, 1959, 71, 3, 544—551.
50. Bate-Smith E. C. «The physiology and chemistry of rigor mortis with special reference to the aging of beef». Advances in Food Research, 1948, 1, 1—38.
51. Bell E. F., Morgan A. F., Dorman A. «Collagen determination in cooked meat». Food Research, 1941, 6, 245—263.
52. Biederman W. und Schwarzenbach G. «Die komplexometrische Titration der Erdalkalien und einiger anderer Metalle mit Eriochromschwarz». Chimia, 1948, 2, 3, 56—59.
53. Black W. H., Warner K. F., and Wilson C. V. «Beef Production and quality as affected by grade of steer, and feeding grain supplement on grass». US Department of agriculture. Technical Bulletin, 1931, № 217, cmp. 1—38.
54. Boas N. F. «Method for determination of hexosamines in tissues». The journal of Biological Chemistry, 1953, 204, 2, 553—563.
55. Bockian A. H., Anglemier A. F., and Sather L. A. «A comparison of an objective and subjective measurement of beef tenderness». Food Technology, 1958, 12, 9, 483—485.
56. Bode F. «Eine Vereinfachung und Verbesserung der Methode zur quantitativ Bestimmung von Aminosäuren und Peptiden mittels des Ninhydrin—Kupferkomplexes». Biochemische Zeitschrift, 1955, 326, 433—436.
57. Braunitzer G. «Konstitutionsermittlung bei Peptiden und Proteinen». Angewandte Chemie, 1957, 69, 6, 189—197.
58. Bringer G. P. «Analysis of adenine poliphosphates by paper chromatography». The journal of chromatography, 1959, 2, 4, 418—422.
59. Burrill L. M., Deethardt D., and Saffle R. L. «Two mechanical devices compared with taste—panel evaluation for measuring tenderness». Food Technology, 1962, 16, 10, 145—146.
60. Cessi C., Pilligo F. «The determination of amino Sugars in the presence of amino acids and glucose». Biochemical journal, 1960, 77, 3, 508—510.
61. Chvapil M., Zahradnik K. «Eine polarographische Methode zur Bestimmung von Prolin und Hydroxyprolin in Proteinhydrolysaten». Zeitschrift für physiologische Chemie, 1957, 307, 2—6, 217—225.
62. Cohen H., Megel H., Kleinberg W. «Pancreatic elastase. I. Observations on cellular Source and Endocrine Influence». Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1958, 97, 1, 8—17.
63. Dworak Z. «Breakdown of adenine nucleotides in beef muscle post mortem and its relation to the content of ammonia». Experientia, 1958, 14, 4, 133—134.

64. Elson L. A., Morgan W. T. L. «A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine». The Biochemical journal, 1933, 27, 6, 1524—1528.
65. Emerson I. A., and Palmer A. Z. «A Food Grinder—Recording Ammeter Method for measuring Beef Tenderness». Food Technology, 1960, 14, 5, 214—216.
66. Fitch S. M., Harkness M. L., and Harkness R. D. «Extraction of collagen from tissues». Nature, 1955, 176, 4473, 163.
67. Flaschka H., und Holasek A. «Eine neue Methode zur Bestimmung des Calciums im Blutserum». Zeitschrift für physiologische Chemie, 1951, 288, 4—6, 244—249.
68. Gerlach E., Weber E., und Döring H. J. «Einige neue Lösungsmittel für die papierchromatographie von Phosphorsäureestern». Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmacologie, 1955, 226, 9—17.
69. Ginger B., Weir C. E. «Variations in tenderness within three muscles from beef rounds». Food Research 1958, 23, 6, 662—669.
70. Giri K. V., Radhakrishnan A. N., Viadyanathan C. S. «Circular paper chromatography. Part. VI. The quantitative determination of amino acids». The Journal of Indian Institute of Science, 1953, 35, 2, 145—180.
71. Grant N. H., and Robbins K. C. «Studies on Porcine Elastase and Proelastase». Archives of Biochemistry and Biophysics, 1957, 66, 2, 396—403.
72. Grau R., und Hamm R. «Die Bestimmung des Bindegewebes in rohem Fleisch durch enzymatische Hydrolyse». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1951, 93, 201, 213.
73. Grau R., und Hamm R. «Über das Wasserbindungsvermögen des Säugetiermuskels. II. Über die Bestimmung der Wasserbindung des Muskels». Zeitschrift für Lebensmittel—Untersuchung und Forschung, 1957, 105, 6, 446—460.
74. Guba F. and Straub F. B. «Extraction of myosin» Studies from the Institute of medical chemistry. University Szeged, 1943, 3, 4—48.
75. Hall D. A. «The Reaction between Elastase and Elastic tissues». The Biochemical journal, 1955, 59, 3, 459—465, u 465—470.
76. Hall D. A. and Czerkawski J. W. «The purification of the proteolytic component of elastases». The Biochemical journal, 1959, 73, 2, 356—361.
77. Hamm R. and Deatherage F. E. «Changes in hydration, Solubility and charges of muscle proteins during heating of meat». Food Research, 1960, 25, 5, 587—610.
78. Hanning F., Bray R. W., Allen N. N., and Niedermeier R. P. «Tenderness and juiciness of veal loin roasts and chops. A comparison of method of measuring those qualities». Food Technology, 1957, 11, 11, 611—614.
79. Hartley L. M., Hall J. L. «Rapid determination of Collagen by Waring—Blendor and centrifuge technique». Food Research, 1949; 14, 2; 195—202.
80. Hill F. «Toughness in meat». Food Manufacture, 1961, 36, 12, 511—516 u 528.
81. Hitchings G. H. «The estimation of hypoxanthines». The journal of biological chemistry, 1942, 143, 1, 43—48.
82. Hoppe-Seyler G., Lang K. «A method for determining connective tissue substance (collagen) in organs». Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie, 1933, 215, 193—195.
83. Hurwicz H., and Tischler K. G. «Variation in determinations of shear force by means of the «Bratzler—Warner Shear». Food Technology, 1954, 8, 9, 391—393.
84. Husaini S. A., Deatherage F. E., Kunkle L. E., and Draudt H. N. «Studies of meat. I. The biochemistry of beef as related to tenderness». Food Technology, 1950, 4, 8, 313—316.
85. Hvidberg E., Jensen C. E. «Changes in molecular weight of acid mucopolysaccharides in connective tissue due to hormone treatment, dehydration and age. Acta Chem. Scandinavica, 1959, 13, 10, 2047—2056.
86. Jennison M. W. «The collagenase activity of culture filtrates of clostridium histolyticum». The journal of Bacteriology, 1947, 54, 1, 55—56.
87. Kerr S. «The determination of purine nucleotides and nucleosides in blood and tissues». The journal of biological chemistry, 1940, 132, 1, 147—160.
88. Kerr S. E. «On the preparation of ATP». The journal of biological Chemistry, 1941, 139, 1, 121—130.
89. Kerr S., and Seraidarian K. «The separation of purine nucleosides from free purines and the determination of the purines and ribose in these fractions». The journal of biological chemistry, 1945, 159, 1, 211—226.
90. Kivirikko K. I., and Liesmaa M. «A colorimetric method for determination of hydroxyproline in tissue hydrolysates». The Scandinavian journal of clinical and Laboratory investigation, 1959, 11, 2, 128—133.
91. Kohn R. R. and Rollerson E. «Aging of human collagen in relation to susceptibility to the action to Collagenases». The journal of gerontology, 1960, 15, 1, 10—14.
92. Kottler L. «Zum Nachweis kollagener Substanzen in Wurstwaren». Wiener tierärztliche Monatsschrift, 1957, 44, 12, 705—715.
93. Kottler L. and Prandl O. «Experimentelle Grundlagen für die Beurteilung des Kollagenvolumens von Brühwürsten. Die histometrische Kollagenbestimmung in Vergleich mit der Oxyprolin- und der Leimstickstoff Methoden». Archive für Lebensmittelhygiene, 1958, 9, 11, 243—248.
94. Kramer A., Aamlid K., Guyer R. B., and Rogers H. «New shear press predicts quality of canned limas». Food Engineering, 1951, 23, 4, 112—113 u 187.
95. Kuang Lu Cheng and Bray R. H. «Determination of Calcium and magnesium in soil and plant materials». Soil. Science, 1951, 72, 6, 449—458.
96. Lampitt L. H., Baker L. C., and Brown K. P. «Connective tissue of meat. IV. Comparison of methods for determining collagen in meats». The journal of the Science of Food and Agriculture, 1954, 5, 7, 343—350.
97. Lang O. W., Farber L., Beck C., and Jerman F. «Determination of Spoilage in protein foodstuffs». Industrial and Engineering Chemistry. Analytical Edition 1944, 16, 8, 490—494.
98. Lansing A. I., Rosenthal T. B., Alex and Dempsey E. W. «The structure and chemical characterization of elastic fibers as revealed by elastase and by electron microscopy». The Anatomical Record, 1962, 114, 4, 555—576.
99. Leach A. A. «Notes on a modification of the Neuman and Logan method for the determination of the hydroxyprolines». The Biochemical journal, 1960, 74, 1, 70—71.
100. Levene C. I., and Gross J. «Evaluation of preparatory methods in the analysis of tissue collagen». Lab. Invest. 1958, 7, 3, 258—262.
101. Lochmann E. H. «Nochmals über einen einfachen und ausreichend Sicheren Weg zur Bestimmung des Bindegewebsanteils, besonders des Sehnenanteils in rohem Fleisch und in Rohwürsten». Archive für Lebensmittelhygiene, 1957, 8, 4, 62.
102. Locker R. H. «Proteolysis in the storage of beef». The journal of the science of Food and Agriculture, 1960, 11, 9, 520—526.
103. Lowry O. H., Gilligan D. R., Katersky E. M. «The Determination of collagen and elastin in tissues». The journal of biological Chemistry, 1941, 139, 2, 795—804.
104. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., and Randall R. J. «Protein measurement with the Folin phenol Reagents». The journal of biological chemistry, 1951, 193, 1, 265—275.
105. Marsh B. B. «Rigor mortis in beef». The journal of the science of food and agriculture. 1954, 5, 2, 73—75.

106. Martin C. J., and Axelrod A. E. «A modified method for determination of hydroxyproline». *Proceeding Society for Experimental Biology and Medicine*, 1953, 83, 3, 461—462.
107. Meyer K., Chaffee E. «The mucopolysaccharides of skin». *The journal of Biological Chemistry*, 1941, 138, 2, 491—499.
108. Miller M., Kastelic I. «Meat tenderness factors. Chemical responses of connective tissue of bovine skeletal muscle». *The journal of agricultural and food chemistry*, 1956, 4, 6, 537—542.
109. Mills G. L. «The application of fluorodinitrobenzene to the quantitative analysis of proteins». *The Biochemical journal*, 1952, 50, 5, 707—712.
110. Mitchell H. H., Zimmerman R. L., Hamilton T. S. «The determination of the amount of connective tissue in meat». *The journal of biological chemistry*, 1927, 71, 2, 379—387.
111. Miyada D. S. and Tappel A. L. «Meat Tenderization. I. Two mechanical devices for measuring textures». *Food Technology*, 1956, 10, 3, 142—145.
112. Miyada D. S. and Tappel A. L. «Colorimetric determination of hydroxyproline». *Analytical chemistry*, 1956, 28, 5, 909—910.
113. Moretti A., and Whitehouse M. W. «Changes in the mucopolysaccharide composition of bovine heart valves with age». *The Biochemical journal*, 1963, 87, 2, 396—402.
114. McIntosh E. N. «Determination of mucoprotein in skeletal muscle». *The journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1961, 9, 6, 421—424.
115. Neuman R. E., and Logan M. A. «The determination of hydroxyproline». *The journal of Biological chemistry*, 1950, 184, 1, 299—306.
116. Neuman R. E., and Logan M. A. «Determination of collagen and elastin in tissue». *The journal of Biological chemistry*, 1950, 186, 549—556.
117. Noughton M. A. and Sanger F. «Purification and Specificity of pancreatic elastase». *The Biochemical journal*, 1961, 78, 1, 156—163.
118. Ostern P. «Über die purinkörper des kaninchenmuskels». *Biochemische Zeitschrift*, 1930, 221, 64—70.
119. Partridge S. M., and Davis H. F. «The chemistry of Connective tissue. 3. Composition of Soluble protein derived from elastin». *The Biochemical journal*, 1955, 61, 1, 21—30.
120. Pearce A. G. E. *Histochemistry*. Churchill, London, 1953.
121. Proctor B. E., Davidson S., Malecki G. J., and Welch M. «A recording strain gage denture tenderometer for foods. II. Instrument evaluation and initial tests». *Food Technology*, 1955, 9, 10, 471—477.
122. Proctor B. E., Davidson S., and Brody A. L. «A recording strain gage Denture Tenderometer for foods. II. Studies on the masticatory force and motion and the force—penetration Relationship». *Food Technology*, 1956, 10, 7, 327—331.
123. Ramsbottom I. M., Strandine E. I., Koonz C. H. «Comparative tenderness of representative beef muscles». *Food Research*, 1945, 10, 6, 497—509.
124. Ramsbottom I. M., Strandine E. I. «Comparative tenderness and identification of muscles in wholesale beef cuts». *Food Research*, 1948, 13, 4, 315—330.
125. Rao N. A. N., Wadhvani T. K. «Resolution of mixtures of amino acids by circular paper chromatography». *Current Science*, 1944, 23, 11, 359—361.
126. Robert L., Samuel P. «Mechanism of Elastolysis by Pancreatic Elastase». *Experientia*, 1957, 13, 4, 167—168.
127. Saad F. M., Kominz D. R. «The N-terminal group of rabbit Trombosin». *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1961, 92, 3, 541.
128. Sachar L. A., Winter K. K., Sicher N. «Photometric method for Estimation of Elastase Activity». *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1955, 90, 2, 323—326.
129. Sale A. I. H. «Texture in Foods. Measurement of meat tenderness». *Society of chemical Industry (London)*, 1960, Monograph No. 7, 103—108.
130. Sanger F. «The free amino groups of insulin». *The Biochemical journal*, 1945, 39, 5, 507—515.
131. Sanger F. «The arrangement of amino acids in proteins». *Advances in protein chemistry*, 1952, 7, 1—68.
132. Sanger F. and Thompson E. O. P. «The amino acid sequence in the glucyl chain of insulin». *The Biochemical journal*, 1953, 53, 3, 353—374.
133. Satorius M. and Child A. M. «Effect of coagulation on press fluid, shear force, muscle cell diameter and composition of beef muscle». *Food Research*, 1938, 3, 6, 619—626.
134. Schoman C. M., Bell I., and Ball C. O. «Variations and their causes in the measurements of beef tenderness by the electric meat grinder method». *Food Technology*, 1960, 14, 11, 581—584.
135. Schönborg F. «Weitere Untersuchungen über den Sehnen- und Bindegewebsgehalt des Muskelfleisches unter besonderer Berücksichtigung der Anforderungen der Qualitätsrichtlinien». *Archiv für Lebensmittel-hygiene*, 1958, 9, 10, 231—235.
136. Shannon W. G., Marion W. W., and Stadelman W. J. «Effect of temperature and time of scalding on the tenderness of breastmeat of chicken». *Food Technology*, 1957, 11, 5, 284—286.
137. Sliwinski R. A., Doty D. M., Landmann W. A. «Over-all assay and partial purification procedures for proteolytic enzymes in beef muscle». *The journal of agricultural and food chemistry*, 1959, 7, 11, 788—791.
138. Smith J. D., Wyatt G. R. «The composition of some microbial Deoxyribose Nucleic Acids». *The Biochemical journal*, 1951, 49, 2, 144—148.
139. Spencer I., Jacobson M., Kimbrell J. T. «Recording Strain-gage Shear Apparatus». *Food Technology*, 1962, 16, 2, 113—114.
140. Sperring D. D., Platt W. T., and Hiner R. L. «Tenderness in beef muscle as measured by pressure». *Food Technology*, 1959, 13, 3, 155—158.
141. Stark J. B., Goodban A. E., Owens H. S. «Paper chromatography of Organic Acids». *Analytical chemistry*, 1951, 23, 3, 413—415.
142. Stegemann H. «Mikrobestimmung von Hydroxyprolin mit chloramin-T und p-Dimethylaminobenzaldehyd». *Hoppe-Seyles Zeitschrift für Physiologische Chemie*, 1958, 311, 1, 41—45.
143. *The Science of meat and meat products*. San Francisco and London, 1960.
144. Tint H. «Simple Quantitative test for Measuring Collagenase Activity». *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1961, 92, 1, 154—158.
145. Troll W., and Cannan R. K. «A modified photometric ninhydrin method for the analysis of amino- and imino acids». *The journal of Biological Chemistry*, 1953, 200, 2, 803—811.
146. Volodkevich N. N. «Apparatus for measurements of chewing resistance or tenderness of food stuffs». *Food Research*, 1938, 3, 221.
147. Warner K. F. «Proceedings of American Society of Animal production», 1928, 114.
148. Wierbicki E., and Deatherage F. E. «Hydroxyproline as an index of connective tissue in muscle». *The journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1954, 2, 17, 878—882.
149. Wierbicki E., and Deatherage F. E. «Determination of water holding capacity of fresh meat». *The journal of agricultural and food chemistry*, 1958, 6, 5, 387—392.
150. Winkler C. A. «Tenderness of meat: I. A recording apparatus for its estimation, and relation between pH and tenderness». *Canadian journal of research*, 1939, 17, section D, 1, 8—14.
151. Wise R. G. «Effect of beating by mechanical pickers on the tenderness of poultry meat M. S. Thesis. Purdue University, 1957.

СОДЕРЖАНИЕ	
Введение	3
Глава 1	
Белковый состав мяса и отдельные свойства белков мышечной ткани 7	
Глава 2	
Факторы, определяющие нежность мяса	14
Глава 3	
Химическая природа веществ, обуславливающих вкус и аромат мяса 26	
Глава 4	
Микроскопическое строение мяса и его структурные изменения в процессах оковенения и созреваия	33
Глава 5	
Послеубойное оковенение мышц	
Физические изменения	53
Биохимические процессы	56
Гликолитические процессы после прекращения жизни животного ...	56
Амилолитический путь распада гликогена	63
Увеличение содержания ионов кальция в экстракте и инактивирование фактора Марша—Бендolla	65
Распад АТФ и креатинфосфата	76
Образование актомиозинового комплекса	72
Изменения гидратации мышц	73
Особенности процесса оковенения в различных мускулах и в мышечной ткани разных видов животных	77
Тепловое оковенение и оковенение при оттаивании	74
Глава 6	
Биохимические основы процесса созреваия мяса	
Автолиз мышечной ткани в асептических условиях	82
Органолептические изменения при созревании мяса	91
Микробиологические изменения	101
Физико-химические изменения	102
Биохимические процессы, обуславливающие изменения нежности мяса	114
Изменения в белковой системе мяса в целом	114
Динамика показателей, характеризующих состояние саркоплазматических белков	118
Динамика показателей, характеризующих состояние миофибриллярных белков	121
Динамика показателей, характеризующих состояние белковых компонентов внутримышечной соединительной ткани	130

Последовательность биохимических, микроскопических и органолептических изменений в процессе улучшения нежности при созревании мяса	139
Гипотезы о сущности процесса улучшения консистенции мяса при его созревании	141
Изменения нежности в процессе созреваия мяса различных видов животных	146
Динамика показателей, характеризующих изменение вкуса и аромата созревающего мяса	149
Перераспределение пуринового азота по фракциям	149
Изменения летучих редуцирующих веществ в процессе созреваия мяса	158
Изменения питательной ценности мяса в процессе созреваия	160
Глава 7	
Ускоренные способы созреваия мяса	
Методы, основанные на торможении развития послеубойного оковенения	165
Адренализация убойного скота	165
Демотация убойного скота	166
Методы, основанные на ускорении развития послеубойного оковенения	167
Методы, основанные на ускорении процесса расслабления оковенения	169
Ускоренное созревние при повышенной температуре с применением УФЛ	169
Ускоренное созревние при повышенной температуре с применением антибиотиков	172
Ускорение расслабления оковенения путем введения минеральных добавок	174
Обработка ультразвуком для повышения нежности мяса	176
Глава 8	
Улучшение консистенции мяса при помощи протеолитических ферментов	
Механизм протеолиза	178
Общие сведения о применении протеолитических ферментов для улучшения качества мяса	183
Изменения микроскопической картины строения тканей мяса	186
Изменения органолептических показателей	190
Химизм процессов	190
Изменения нежности и гидратации мяса	190
Изменения мышечных белков	193
Изменения компонентов внутримышечной соединительной ткани	199
Физин, его свойства и методы получения	210
Технология применения протеолитических ферментов для размягчения мяса при производстве натуральных полуфабрикатов	220
Интенсификация процесса улучшения консистенции при созревании быстроохлажденного говяжьего мяса путем его обработки препаратом протеолитического фермента физина	230
Глава 9	
Методы исследования	
Сравнительная характеристика объективных методов определения жесткости мяса	242
Определение содержания в мясе свободной и связанной воды по методу Грау и Гамма	250
Трилонометрический метод определения содержания в мясе кальция	250
Методы определения показателей, характеризующих изменения в углеводной системе мяса	253

Определение общего количества гликогена по Пфлюгеру в модификации Вильштеттера	253
Определение количества трудноизвлекаемого «связанного» гликогена	253
Методы определения показателей, характеризующих изменения в белковой системе мяса в целом	254
Количественное определение свободных аминокислот мясного экстракта при помощи хроматографии на бумаге	254
Определение перевариваемости <i>in vitro</i> белков мяса ферментами при последовательном воздействии пепсина и панкреатина	257
Методы определения показателей, характеризующих состояние миофибриллярных белков	258
Определение растворимости белков фракции миозина	258
Определение содержания азота белков, экстрагируемых соевым раствором	260
Определение активности актомиозина по Баленовичу и Штраубу ...	261
Определение легкогидролизуемого фосфора аденозинтрифосфорной кислоты, (АТФ) методом ее осаждения солями ртути	263
Количественное определение N-концевых групп в белках фракции миозина	265
Метод определения показателей, характеризующих состояние белковых компонентов внутримышечной соединительной ткани	275
Фракционирование как способ оценки лабильности соединительной ткани мяса	275
Методы исследования фибриллярных компонентов внутримышечной соединительной ткани	277
Определение развариваемости коллагена	282
Метод исследования основного вещества внутримышечной соединительной ткани	282
Метод определения показателей, обуславливающих улучшение вкуса и аромата мяса в процессе его созревания	287
Изучение распределения в мясе пуринового азота по фракциям ...	287
Определение общего количества летучих редуцирующих веществ	293
Методы определения активности препаратов протеолитических ферментов	295
Определение общей протеолитической активности	295
Определение эластазной активности ферментных препаратов	299
Определение коллагеназной активности	300
Использованная литература	303

Владимир Иванович Соловьев

СОЗРЕВАНИЕ МЯСА

Редактор Е. М. Крестьянинова
Художник В. А. Назаров
Худож. редактор С. Р. Нак
Техн. редактор А. М. Сатарова
Корректоры Н. П. Багма, Э. В. Коршунова

Т-00225 Сдано в набор 9/IX 1965 г.
Подписано к печати 11/Д 1966 г. Формат 60×90^{1/16}
Объем 21,25 печ. л. Уч.-изд. л. 22,47
Цена 1 р. 62 к. Изд. № 4132 Заказ 1559
Св. тем. план 1965 г. п/№ 163 Тираж 3300

Экспериментальная типография ВНИИПП
Комитета по печати при Совете
Министров СССР
Москва И-51, Цветной бульвар, 30.

Издательство

«Пищевая промышленность»

НА СКЛАДЕ ИЗДАТЕЛЬСТВА
ИМЕЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ КНИГИ:

1. Гаевой Е. В., Синицын К. Д. ТЕХНОЛОГИЯ КОЖЕВЕННОГО И МЕХОВОГО СЫРЬЯ, 1964 г., 1 р. 52 к.

2. Гусаковский З. П., Очкин В. А. ТЕХНОЛОГИЯ МЯСНЫХ КОНСЕРВОВ, 1964 г., 0—96 к.

3. Петров К. П. ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ ПИЩЕВОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, 1965 г., 0—84 к.

НА СКЛАДЕ ИЗДАТЕЛЬСТВА ИМЕЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ КНИГИ:

4. Гуральник М. И. МЕХАНИЗАЦИЯ ПОГРУЗОЧНО-РАЗГРУЗОЧНЫХ РАБОТ НА ХОЛОДИЛЬНИКАХ, 1965 г., 0—54 к.

5. Горбатов В. М. СИСТЕМА ПЛАНОВО-ПРЕДУПРЕДИТЕЛЬНОГО РЕМОНТА ОБОРУДОВАНИЯ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, 1965 г., 0—30 к.

6. Шварц В. М. СЫРЬЕВЫЕ ЗОНЫ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, 1965 г., 0—32 к.

7. Дергунова А. А. ОБРАБОТКА КИШОК, 1965 г., 0—27 к.

8. Крылова Н. Н. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, 1965 г., 1 р. 09 к.

9. Горбатов В. М. ПРИМЕНЕНИЕ ХОЛОДА В МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, 1964 г., 1 р. 04 коп.

10. Беззубов. УЛЬТРАЗВУК И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, 1964 г., 0—72 к.

11. Пелеев. ГАЗОИСПОЛЗУЮЩЕЕ ОБОРУДОВАНИЕ ПРЕДПРИЯТИЙ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, 1965 г., 0—56 коп.

12. Горбатов В. М. СПРАВОЧНИК ПО ОБОРУДОВАНИЮ ПРЕДПРИЯТИЙ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, том 2, 1965 г., 1 р. 90 к.

13. Пезацци В. ПОСЛЕУБОЙНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ, 1964 г., 1 р. 15 к.

14. Ильченко С. Г. ТЕХНОЛОГИЯ КОНСЕРВИРОВАНИЯ И ТЕХНОХИМИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ, 1964 г., 1 р. 13 к.

15. СПРАВОЧНИК ПО ПРОИЗВОДСТВУ КОНСЕРВОВ, том I, 1965 г., 2 р. 66 к.

Заказы на книги (без денежных переводов) следует направлять по адресу: Москва, Б-120, Мрузовский пер., д. 1. Отдел распространения.